

Fernando Dutra Brignol

**Farinha de *Schizochytrium* sp. como fonte de DHA na  
suplementação dietética para tilápia-do-nilo: retenção e perfil de  
ácidos graxos**

Dissertação submetida ao Programa de  
Pós-Graduação em Aquicultura da  
Universidade Federal de Santa Catarina  
para a obtenção do Grau de Mestre em  
Aquicultura

Orientadora: Débora Machado Fracalossi  
Coorientadora: Camila Fernandes Corrêa

Florianópolis  
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Brignol, Fernando Dutra

Farinha de Schizochytrium sp. como fonte de DHA na suplementação dietética para tilápia-do-nilo: retenção e perfil de ácidos graxos / Fernando Dutra Brignol ; orientadora, Débora Machado Fracalossi, coorientadora, Camila Fernandes Corrêa, 2017.

71 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2017.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. Oreochromis niloticus. 3. nutrição. 4. PUFA. 5. relação n-3/n-6. I. Fracalossi, Débora Machado . II. Corrêa, Camila Fernandes . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. IV. Título.

**Farinha de *Schizochytrium* sp. como fonte de DHA na  
suplementação dietética para tilápia-do-nilo: retenção e perfil de  
ácidos graxos**


Por

FERNANDO DUTRA BRIGNOL

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

**MESTRE EM AQUICULTURA**

e aprovada em sua forma final pelo Programa de  
Pós-Graduação em Aquicultura.



---

Prof. Alex Pires de Oliveira Nunes, Dr  
Coordenador do Programa  
de PG em Aquicultura  
Portaria 1988/GR/2012

Banca Examinadora:



---

Dra. Debora Machado Fracalossi – *Orientadora*



---

Dr. Alexandre Sachsida Garcia - UFPR



---

Dr. Evoy Zaniboni Filho - UFSC



---

Dr. Felipe do Nascimento Vieira - UFSC



Dedico esta dissertação a minha mãe, Geslaine Dutra. Inspiração como professora e profissional. Exemplo de vida e superação. Por sempre ter acreditado em mim e por ter me ajudado a acreditar.



## AGRADECIMENTOS

À minha mãe Geslaine Dutra, por ter me ensinado que o trabalho duro e honesto sempre será recompensado, por ter acreditado no meu potencial, até mesmo quando eu duvidava, e por sempre estar ao meu lado apesar da distância;

Às minhas irmãs Liliane Brignol, Carine Brignol, Alessandra Dutra e a toda minha família, que sempre estiveram comigo, me apoiando e incentivando;

À minha namorada Penélope Bastos Teixeira, pela paciência, auxílio, companheirismo, cuidado, carinho e por estar sempre ao meu lado principalmente nas horas mais difíceis;

À minha orientadora Débora Machado Fracalossi, pela orientação, auxílio, ensinamentos e por ter confiado no meu trabalho;

À minha coorientadora Camila Fernandez Corrêa um super agradecimento pela amizade, companheirismo, auxílio, paciência, orientação e ensinamentos. Por ter aceitado este desafio e ter acreditado no meu trabalho;

Aos meus amigos e colegas de Labnutri, Vitor e Renata que foram meus companheiros no “front” de batalha e fundamentais para a realização deste trabalho;

Aos meus amigos e companheiros de Labnutri: pela amizade, convívio, ensinamentos e por estarem sempre prontos para me ajudar no que for preciso;

Aos meus amigos de LAPAD: por toda amizade, companheirismo e apoio;

Aos amigos Natyta e Augusto, pela amizade, apoio, incentivo e estarem sempre ao meu lado;

À todos os professores e funcionários do programa de Pós-graduação pelo apoio, incentivo e ensinamentos durante a realização deste trabalho;

Ao professor Marcelo Maraschin pela colaboração nas análises de ácidos graxos;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento da minha bolsa de produtividade;

À todos que de alguma forma contribuíram para minha formação durante esses anos de estudo.





“Alguns homens veem as coisas como são, e dizem ‘Por que?’ Eu sonho com as coisas que nunca foram e digo ‘Por que não?’”  
(Geroge Bernard Shaw)



## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a farinha de *Schizochytrium* sp. (All-G-Rich®) como fonte de ácido docosaexaenoico (DHA) em dietas para juvenis de tilápia-do-nylo, quanto à retenção de ácidos graxos corporais e composição de ácidos graxos no músculo. A farinha de *Schizochytrium* sp. foi testada em quatro níveis (0,5; 1,0; 2,0 e 4,0% da dieta na matéria seca), além de uma dieta sem inclusão de farinha de *Schizochytrium* sp. (0% All-G-Rich®), em delineamento inteiramente ao acaso (DIC), com cinco tratamentos e cinco repetições. Ainda, a dieta com 1% de farinha de *Schizochytrium* sp. foi comparada com uma dieta controle, contendo quantidade equivalente de DHA, mas na forma de 1,7% de óleo de fígado de bacalhau, na matéria seca (OFB), em DIC, com dois tratamentos e cinco repetições. Os juvenis de tilápia ( $8,35 \pm 0,80$  g) foram alimentados duas vezes ao dia até saciedade aparente, em unidades experimentais de 100 L estocadas com 25 peixes cada, em sistema de recirculação e temperatura controlada da água (28°C), durante 57 dias. Ao final do experimento foi possível observar uma redução na retenção corporal dos ácidos graxos DHA e total PUFA n-3 e aumento na retenção corporal de  $\alpha$ -LNA, LOA e total PUFA n-6 em juvenis de tilápia, devido ao aumento da inclusão da farinha de *Schizochytrium* sp. nas dietas. A composição de ácidos graxos no músculo da tilápia foi afetada pelas inclusões crescentes de farinha de *Schizochytrium* sp. na dieta, com aumento nas quantidades de DHA,  $\alpha$ -LNA, PUFA n-3 e LC-PUFA n-3 e diminuição de MUFA, PUFA n-6 e LC-PUFA n-6. Ao comparar a retenção corporal dos ácidos graxos entre os peixes alimentados com fontes equivalentes em DHA na dieta, farinha de *Schizochytrium* sp. e OFB, observou-se maior retenção corporal para os ácidos graxos DHA,  $\alpha$ -LNA, LOA, PUFA n-3 e PUFA n-6 nos peixes alimentados com a dieta contendo OFB. Igualmente, juvenis alimentados com a dieta OFB apresentaram maior conteúdo DHA, PUFA n-3 e LC-PUFA n-3 e menor conteúdo de SFA, PUFA n-6 e LC-PUFA n-6 na composição de ácidos graxos no músculo. Conclui-se que apesar da redução da taxa de retenção corporal de DHA em juvenis de tilápia-do-nylo com o aumento da farinha de *Schizochytrium* sp. na dieta, ocorreu aumento do conteúdo de DHA e melhora da relação n-3/n-6 PUFA no músculo dos peixes. Portanto, a farinha de *Schizochytrium* sp. pode ser considerada uma fonte alternativa de DHA em dietas para a tilápia-do-nylo.

Palavras-chave: Aquicultura, *Oreochromis niloticus*, nutrição, PUFA, relação n-3/n-6.



## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate *Schizochytrium* sp. dried meal (All-G-Rich®) as an alternative source of docosahexaenoic acid (DHA) in diets for Nile tilapia juveniles, regarding whole body retention of fatty acids and the muscle fatty-acid profile. *Schizochytrium* sp. dried meal was tested at four concentrations (0.5, 1.0, 2.0, and 4.0% diet, dry matter basis) and, in addition, a diet without *Schizochytrium* sp. dried meal (0% All-G-Rich®), in a completely randomized design (CRD) with five replicates. Furthermore, the diet with 1% of *Schizochytrium* sp. was also compared to a control diet, containing an equivalent content of DHA, given as 1.7% cod liver oil, dry matter basis (CLO), in CRD with five replicates. Tilapia juveniles ( $8.35 \pm 0.80$  g) were fed twice a day to apparent satiety, in 100-L experimental units, stocked with 25 fish each, in a recirculation system with controlled water temperature (28°C), during 57 days. There was a reduction in apparent body retention of DHA and total n-3 PUFA fatty acids and an increase in apparent body retention of  $\alpha$ -LNA, LOA and total n-6 PUFA as the dietary concentration of *Schizochytrium* sp. increased. The muscle fatty-acid profile was affected by the increasing concentration of *Schizochytrium* sp. dried meal in the diet, with an increase in DHA,  $\alpha$ -LNA, n-3 PUFA and n-3 LC-PUFA, and a decrease in MUFA, n-6 PUFA and n-6 LC-PUFA. When comparing the apparent body retention of fatty acids between fish fed the two DHA-equivalent sources in the diet, *Schizochytrium* sp. and CLO, we registered higher apparent body retention for DHA,  $\alpha$ -LNA, LOA, PUFA n-3 and PUFA n-6 in fish fed CLO. Similarly, tilapia fed the CLO diet showed higher DHA, n-3 PUFA, and n-3 LC-PUFA contents, as well as lower SFA, PUFA n-6 and LC-PUFA n-6 contents in the muscle. In conclusion, despite the reduction on apparent body retention of DHA in Nile tilapia juveniles with the increase of *Schizochytrium* sp. dried meal in the diet, there was an increase in DHA content and an improvement in the n-3/n-6 PUFA ratio in the fish muscle. Therefore, *Schizochytrium* sp. dried meal could be considered as an alternative source of DHA in diets for Nile tilapia.

**Key Words:** Aquaculture, *Oreochromis niloticus*, nutrition, PUFA, n-3/n-6 ratio.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. (A) Taxa de retenção corporal aparente de DHA,  $\alpha$ -LNA e LOA e (B) PUFA n-3 e PUFA n-6 (média  $\pm$  erro padrão) em juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com concentrações crescentes de All-G-Rich<sup>®</sup> na dieta por 57 dias..... 50

Figura 2 (A) Perfil de DHA (g/100g da matéria seca) e (B) relação n-3/n-6 do músculo (média  $\pm$ SEM) em juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com concentrações crescentes de All-G-Rich<sup>®</sup> na dieta por 57 dias. .... 54





## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1 Estudos sobre a exigência de ácidos graxos essenciais em tilápias. ....   | 30 |
| Tabela 2 Composição da farinha de <i>Schizochitryum</i> sp. All-G-Rich® ...  | 42 |
| Tabela 3 Formulação e composição centesimal das dietas experimentais (% da matéria seca).....  | 43 |
| Tabela 4 Composição de ácidos graxos das dietas experimentais (% do total de ácidos graxos).....   | 44 |
| Tabela 5 Taxa de retenção corporal aparente de ácidos graxos em juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com concentrações crescentes de All-G-Rich® na dieta por 57 dias.....                 | 49 |
| Tabela 6 Taxa de retenção corporal aparente de ácidos em juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com duas fontes de DHA na dieta, All-G-Rich® ou óleo de fígado de bacalhau, por 57 dias..... | 51 |
| Tabela 7 Perfil de ácidos graxos no músculo em juvenis de tilápia-do-nilo alimentadas com concentrações crescentes de All-G-Rich® na dieta por 57 dias. ....                                 | 53 |
| Tabela 8 Perfil de ácidos graxos no músculo em juvenis de tilápia-do-nilo alimentadas com duas fontes de DHA na dieta, All-G-Rich® ou óleo de fígado de bacalhau, por 57 dias. ....          | 55 |
| Tabela 9 Peso, sobrevivência e índices corporais de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com concentrações crescentes de All-G-Rich® na dieta por 57 dias. ....                            | 56 |
| Tabela 10 Peso, sobrevivência e índices corporais de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com duas fontes de DHA na dieta, All-G-Rich® ou óleo de fígado de bacalhau, por 57 dias.....     | 57 |



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                    |   |
|--------------------|---|
| LOA.....           | ácido graxo linoleico (18:2n-6)                                   |
| $\alpha$ -LNA..... | ácido graxo alfa-linolênico (18:3n-3)                             |
| ARA.....           | ácido graxo araquidônico (20:4n-6)                                |
| EPA.....           | ácido graxo eicosapentaenoico (20:5n-3)                           |
| DHA.....           | ácido graxo docosaexaenoico (22:6n-3)                             |
| SFA.....           | ácido graxo saturado ( <i>saturated fatty acid</i> )              |
| MUFA.....          | ácido graxo monoinsaturado ( <i>monounsaturated fatty acid</i> )  |
| PUFA.....          | ácido graxo poli-insaturado ( <i>polyunsaturated fatty acid</i> ) |
| LC-PUFA....        | PUFA de cadeia longa ( <i>long chain PUFA</i> )                   |
| n-3.....           | série n-3 (ômega-3)   |
| n-6.....           | série n-6 (ômega-6)   |
| AOAC.....          | Association of Official Analytical Chemists                       |
| CEUA.....          | Comissão de Ética no Uso de Animais                               |
| FAO.....           | Food and Agriculture Organization of United Nations               |
| IBGE.....          | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística                   |
| NRC.....           | National Research Council   |
| GIFT.....          | Genetic Improved Farmed Tilapia                                   |
| g.....             | grama   |
| mg.....            | miligrama   |
| mm.....            | milímetro   |
| L.....             | litro   |
| mL.....            | mililitro   |
| h.....             | hora  |
| min.....           | minuto  |



## LISTA DE SÍMBOLOS

|                          |                   |
|--------------------------|-------------------|
| $\alpha$ .....           | letra grega alfa  |
| $\Delta$ .....           | letra grega delta |
| $\beta$ .....            | letra grega beta  |
| $^{\circ}\text{C}$ ..... | graus Celsius     |
| $\pm$ .....              | mais ou menos     |
| $\%$ .....               | percentagem       |



## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| INTRODUÇÃO GERAL .....  | 25 |
| <i>Aquicultura e consumo de pescado</i> .....   | 25 |
| <i>Importância da tilápia-do-nylo na aquicultura</i> .....                                      | 26 |
| <i>Ácidos graxos na nutrição de peixes</i> .....  | 27 |
| <i>LC-PUFA n-3 na alimentação humana</i> .....  | 30 |
| <i>Problemática do óleo de peixe</i> .....  | 31 |
| <i>Schizochytrium sp. como fonte de DHA</i> .....   | 33 |
| OBJETIVOS .....   | 35 |
| Objetivo geral.....   | 35 |
| Objetivos específicos.....  | 35 |
| ARTIGO CIENTÍFICO.....  | 37 |
| Resumo .....  | 38 |
| 1 Introdução .....  | 39 |
| 2 Materiais e métodos .....   | 41 |
| 2.1 Delineamento e dietas experimentais .....   | 41 |
| 2.2 Material biológico e condições experimentais .....  | 45 |
| 2.3 Análise da composição centesimal e energia dos<br>ingredientes e dietas experimentais ..... | 46 |
| 2.4 Avaliação dos índices corporais.....  | 46 |
| 2.5 Análise do perfil de ácidos graxos corporal, do músculo e<br>das dietas .....               | 46 |
| 2.6 Taxa de retenção corporal aparente.....   | 47 |
| 2.7 Análise estatística.....  | 48 |
| 3 Resultados .....  | 48 |
| 4 Discussão .....   | 57 |
| 5 Conclusão.....  | 63 |
| 6 Referencias.....  | 63 |
| REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL.....  | 67 |





## INTRODUÇÃO GERAL

### *Aquicultura e consumo de pescado*

A aquicultura é um dos segmentos da produção animal que mais cresce no mundo. Em 2014 produziu 73,8 milhões de toneladas e foi responsável por 44% da produção oriunda da pesca e aquicultura mundial (FAO, 2016). O desenvolvimento da aquicultura superou o crescimento da população mundial, o que levou a um aumento na produção aquícola per capita, ao longo das últimas três décadas na maioria das regiões do mundo. Em 2014, pela primeira vez a contribuição do setor aquícola para a produção de pescado para consumo humano superou a de pescado proveniente de extrativismo. Além de produzir alimento, a aquicultura, junto com a pesca, é responsável pela renda de milhões de pessoas ao redor do mundo (FAO, 2016).

Espécies de água doce, como carpas, bagres e tilápias, são responsáveis pela maior parte do aumento na produção aquícola mundial e representarão aproximadamente 60% da produção em 2025 (FAO, 2016). Esse crescimento vivenciado nos últimos anos, em especial da produção de tilápias, colocou o Brasil como o 14º maior produtor aquícola do mundo (IBGE, 2015; FAO, 2016). Em 2015, a aquicultura brasileira atingiu um valor de produção de R\$ 4,39 bilhões, com a maior parte (69,9%) oriunda da criação de peixes, seguida pela criação de camarões (20,6%). Todas as 27 Unidades da Federação e 2905 municípios brasileiros, de um total de 5570 municípios, apresentaram informações sobre algum produto da aquicultura. A produção total da piscicultura brasileira foi de 483,24 mil toneladas em 2015, representando um aumento de 1,5% em relação ao ano anterior (IBGE, 2015).

Em 2013, o pescado proveniente da aquicultura e do extrativismo, representou ao redor de 17% da ingestão de proteínas animais e 6,7% das proteínas totais consumidas pela população mundial (FAO, 2016). O consumo mundial aparente de pescado per capita cresceu de 9,9 kg na década de 1960 para 14,4 kg na década de 1990 e 19,7 kg em 2013, com estimativas que apontam aumento acima de 20 kg em 2015 (FAO, 2016). Este crescimento significativo do consumo de pescado tem melhorado a dieta dos seres humanos ao redor do mundo proporcionando alimentos diversificados e nutritivos. O pescado, além de ser uma fonte rica em proteínas de alta qualidade e fácil digestão, que contém todos os aminoácidos essenciais, é fonte de ácidos graxos essenciais e também de vitaminas e minerais (FAO, 2016). O pescado é uma fonte quase que exclusiva de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (LC-PUFA)

da série n-3, essenciais para a saúde e o bem estar humano (NRC, 2011). Mesmo a indigestão de pequenas quantidades de pescado pode ter uma considerável repercussão nutricional positiva, em dietas baseadas em vegetais (FAO, 2016). Portanto, a importância do estudo sobre fontes alternativas de ácidos graxos essenciais na dieta de peixes cultivados não se limita ao fornecimento de quantidades adequadas para o desenvolvimento dos peixes, mas também ao seu efeito na composição de ácidos graxos depositados nos tecidos destes peixes, importantes fontes de LC-PUFA n-3 na alimentação humana.

### ***Importância da tilápia-do-nilo na aquicultura***

As tilápias são representantes da ordem Perciformes, família Cichlidae e originárias da África, Israel e Jordânia (MORO et al., 2013). Atualmente é um dos principais peixes cultivados mundialmente, superada apenas pelas produções de carpas chinesas e carpas indianas (FAO, 2016). Aproximadamente 80% das tilápias produzidas no mundo são da espécie *Oreochromis niloticus*, cujo nome comum é tilápia-do-nilo (MORO et al., 2013). No Brasil, a tilápia-do-nilo é a espécie de peixe mais cultivada, com 219 mil toneladas despescadas em 2015, representando 45% do total da piscicultura nacional, onde a produção da espécie aumentou 9,7% em relação a 2014 (IBGE, 2015). Isso se deve à capacidade da tilápia em se adaptar a diversos sistemas de produção e a diferentes níveis de salinidade na água, além da boa aceitabilidade pelo mercado e tecnologias de produção conhecidas (MORO et al., 2013). As linhagens comerciais mais produzidas e comercializadas atualmente são a Chitralada ou Tailandesa e a GIFT (*Genetic Improved Farmed Tilapia*) (MORO et al., 2013). No Brasil, assim como em boa parte do mundo, a produção da tilápia-do-nilo se baseia em populações monosexo macho, para evitar a reprodução em cativeiro durante a engorda. Esta prática, previne problemas relacionados à heterogeneidade do lote e superpovoamento dos viveiros, já que a tilápia-do-nilo é uma espécie de maturação precoce (MORO et al., 2013).

## *Ácidos graxos na nutrição de peixes*

Os ácidos graxos são componentes de várias classes de lipídios, constituem-se em uma cadeia de hidrocarbonetos, que varia em tamanho e número de insaturações, ligada a um grupo metil inicial e a um grupo carboxila terminal (NRC, 2011). A importância dos ácidos graxos está diretamente relacionada às suas múltiplas funções: 1) são fonte de energia metabólica, na forma de ATP, por meio da sua  $\beta$ -oxidação nas mitocôndrias; 2) são componentes de triacilgliceróis e outros lipídios de armazenamento (TOCHER, 2003); 3) têm importante papel na permeabilidade, estabilidade e manutenção da estrutura das membranas celulares, como constituintes dos fosfolipídios (TOCHER, 2010) e 4) servem como substrato para produção de eicosanoides e docosanoides (TOCHER, 2003; HONG et al., 2005), os quais são moléculas bioativas autócrinas, ou seja, compostos hormonais produzidos por células para atuar em sua vizinhança imediata. Praticamente todos os tecidos produzem esses hormônios, com ampla ação fisiológica na coagulação do sangue, resposta imune, resposta inflamatória e anti-inflamatória, tônus cardiovascular, função renal, função neural e reprodução (TOCHER, 2003).

Os ácidos graxos podem ser classificados em grupos químicos distintos quanto ao seu grau de insaturação, ou seja, número de duplas ligações na cadeia de hidrocarbonetos, a saber: 1) ácidos graxos que não possuem ligações insaturadas, referidos como ácidos graxos saturados (SFA, do inglês *saturated fatty acids*); 2) ácidos graxos com apenas uma ligação insaturada na sua cadeia, referidos como ácidos graxos monoinsaturados (MUFA, *monounsaturated fatty acids*) e 3) ácidos graxos com duas ou mais ligações insaturadas, referidos como ácidos graxos poli-insaturados (PUFA, *polyunsaturated fatty acids*) (GLENCROSS, 2009). Ainda, os PUFA podem ser classificados como LC-PUFA (*long chain polyunsaturated fatty acids*), quando tiverem 20 ou mais carbonos na sua cadeia (GLENCROSS, 2009).

Os ácidos graxos essenciais são aqueles que, quando adicionados à dieta, estimulam o crescimento ou qualquer outra resposta biológica do animal, sendo os mesmos não sintetizados pelo peixe ou sintetizados a uma taxa que não permite crescimento adequado (GLENCROSS, 2009). Estes continuam a ser um dos nutrientes menos compreendidos e enigmáticos na nutrição dos organismos aquícolas. Além disso, de todos os nutrientes dietéticos, nenhum tem maior influência na composição nutricional do pescado produzido. Deficiências dietéticas de ácidos graxos essenciais podem causar impacto no crescimento do animal,

reprodução, imunidade e qualidade do produto, além de causar patologias como erosão das nadadeiras, palidez e aumento do volume do fígado, miocardite, lordose e síndrome do choque (SARGENT et al., 2002; GLENCROSS, 2009). Cinco ácidos graxos são considerados essenciais para a maioria das espécies aquícolas: o linoleico (LOA, 18:2n-6), o alfa-linolênico ( $\alpha$ -LNA, 18:3n-3), o araquidônico (ARA, 20:4n-6), o eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) e o docosaexaenoico (DHA, 22:6n-3) (GLENCROSS, 2009). Estes ácidos graxos pertencem ao grupo dos ácidos graxos poli-insaturados, pois possuem duas ou mais dupla ligações em sua cadeia. Os ácidos graxos da série n-6 estão presentes em abundância na maioria dos ingredientes de origem vegetal terrestre; assim, a formulação de dietas para atingir a exigência destes ácidos graxos é relativamente fácil. Por outro lado, os ácidos graxos da série n-3, com exceção de alguns poucos ingredientes vegetais, como o óleo de linhaça rico em  $\alpha$ -LNA, estão presentes apenas em ingredientes de origem marinha, portanto estes ácidos graxos são considerados mais limitantes na formulação de dietas de organismos aquícolas (TURQUINI et al., 2009).

Todos os organismos vivos têm a capacidade de sintetizar ácidos graxos SFA e MUFA, porém a síntese de SFA ocorre por meio de um sistema multienzimático denominado sintase de ácidos graxos citosólico (SARGENT et al., 1989) e a síntese de MUFA ocorre a partir da dessaturação de ácidos graxos SFA, através da enzima dessaturase  $\Delta$ -9 (SARGENT et al., 2002; TOCHER, 2003). Os peixes, assim como outros vertebrados, não são capazes de sintetizar PUFA a partir de MUFA, pois não possuem as enzimas dessaturase  $\Delta$ -12 e  $\Delta$ -15, necessárias para a produção de LOA e  $\alpha$ -LNA a partir de MUFA (TOCHER, 2003). Contudo, os peixes, em especial os de água doce e alguns peixes diádromos possuem as enzimas dessaturase  $\Delta$ -5, dessaturase  $\Delta$ -6 e alongases, responsáveis pela biossíntese dos LC-PUFA (ARA, EPA e DHA), a partir de ácidos graxos precursores de 18 carbonos, como o LOA e o  $\alpha$ -LNA (TOCHER, 2003; GLENCROSS, 2009).

As mesmas enzimas dessaturases e alongases atuam tanto nos ácidos graxos da série n-3 como nos da série n-6, assim há competição entre as duas séries de PUFA. No entanto, a afinidade das enzimas é maior para os ácidos graxos da série n-3 do que para os da série n-6 (SARGENT et al., 2002; TOCHER, 2003; GLENCROSS, 2009). Ainda, a afinidade dos ácidos graxos pela enzima dessaturase  $\Delta$ -6 aumenta com o comprimento da cadeia e o nível de dessaturação, na seguinte ordem: DHA > EPA > ARA > LNA > LOA > 18:1 > 16:1. Portanto, a dessaturase  $\Delta$ -6 está sujeita a retro-inibição pelos LC-PUFA (GLENCROSS, 2009).

Já as alongases possuem uma maior afinidade pelos ácidos graxos de menor tamanho de cadeia, podendo atuar em MUFA e PUFA na seguinte ordem: C-18 > C-20 > C-22, com preferência para ácidos graxos da série n-3 em detrimento daqueles da série n-6 (GLENCROSS, 2009).

A produção da tilápia-do-nilo dispõe de um pacote tecnológico bem avançado, oriundo de inúmeras pesquisas, onde boa parte das exigências em energia, proteína e aminoácidos essenciais já são conhecidas (NRC, 2011; FURUYA et al., 2012). O boletim do National Research Council (NRC, 2011), inclui a exigência em ácidos graxos da série n-3 e n-6 para tilápia. Portanto, já está claro que tilápias não têm capacidade de sintetizar os ácidos graxos linoleico e alfa-linolênico (CHOU E SHIAU, 1999), porém podem obter LC-PUFA de 20 e 22 carbonos de seus precursores de 18 carbonos (TOCHER et al., 2002; TEOH et al., 2011). Os estudos sobre exigências de ácidos graxos para tilápias estão sumarizados na Tabela 1. Contudo, ainda existem muitas dúvidas a serem respondidas quanto à exigência em ácidos graxos essenciais (GLENCROSS, 2009), principalmente no que diz respeito a utilização de fontes lipídicas alternativas e possíveis consequências deste uso sobre o metabolismo e composição corporal das tilápias.

É particularmente importante entender que os requisitos fisiológicos do peixe para prevenir patologias e produzir um crescimento ótimo podem não ser os mesmos requisitos para a manutenção da sua qualidade nutricional para consumo humano (TOCHER, 2010). Neste sentido, Tocher (2015) sugere que a exigência de ácidos graxos da série n-3 em peixes destinados ao consumo humano, considere a qualidade nutricional com base no conteúdo de LC-PUFA n-3 do peixe. Para satisfazer este nível de exigência, o autor recomenda que os ácidos graxos EPA e DHA sejam fornecidos em excesso em relação à exigência dietética dos peixes, para que sejam armazenados nos tecidos e, consequentemente, sirvam como fonte nutricional destes ácidos graxos para humanos (TOCHER, 2015).

Tabela 1 Estudos sobre a exigência de ácidos graxos essenciais em tilápias.

| Espécie                                   | Temperatura<br>° C | Ácido graxo<br>exigido <sup>1</sup> | Exigência<br>% <sup>2</sup> | Referência             |
|---|--------------------|-------------------------------------|-----------------------------|------------------------|
| <i>Tilápia zilli</i>                      | 27 - 28            | LOA                                 | 1                           | Kanazawa et al. (1980) |
| <i>Oreochromis niloticus</i>              | 28                 | PUFA n-6                            | -                           | Teshima et al. (1982)  |
| <i>O. niloticus</i>                       | 25                 | LOA                                 | 0,5                         | Takeuchi et al. (1983) |
| <i>O. niloticus</i> x<br><i>O. aureus</i> | 24 - 26            | LC PUFA n-3<br>e n-6                | -                           | Chou e Shiau (1999)    |
| <i>O. niloticus</i> x<br><i>O. aureus</i> | 25 - 27            | LC PUFA n-3<br>e n-6                | 0,2-0,8                     | Chou et al. (2001)     |
| <i>O. niloticus</i>                       | 27,4               | $\alpha$ -LNA                       | 0,45-0,64                   | Chen et al. (2013)     |
| <i>O. niloticus</i> x<br><i>O. aureus</i> | 29                 | LOA                                 | 1,14                        | Li et al. (2013)       |
| <i>O. niloticus</i>                       | 22                 | $\alpha$ -LNA                       | 0,68-0,71                   | Nobrega et al. (2017)  |

<sup>1</sup> LOA: ácido linoleico (18:2n-6);  $\alpha$ -LNA: ácido alfa-linolênico (18:3n-3); PUFA: ácido graxo poli-insaturado; LC-PUFA: ácido graxo poli-insaturado de cadeia longa (20 a 22 carbonos).

<sup>2</sup> Expressa em porcentagem da matéria seca, com exceção do estudo de Li et al. (2017), expresso na matéria úmida.

### ***LC-PUFA n-3 na alimentação humana***

O pescado é fonte quase que exclusiva de LC-PUFA da série n-3, essenciais para a saúde e o bem estar humano (RUXTON et al., 2005; NRC, 2011). Estes ácidos graxos têm efeitos benéficos em várias patologias humanas incluindo doenças cardiovasculares, inflamatórias, distúrbios comportamentais e de saúde mental, prevenção de câncer color-retal, de mama e próstata, além de ter importante papel no desenvolvimento neural (RUXTON et al., 2005; TOCHER et al., 2015).

Simopoulos (2002) sugere que dietas para alimentação humana com relação n-6/n-3 entre 2,5 e 4,0 contribuem para a redução do risco de muitas das doenças crônicas de alta prevalência nas sociedades ocidentais. Os humanos evoluíram com uma dieta contendo relação n-6/n-3 de 1,0; entretanto, atualmente a relação n-6/n-3 das dietas ocidentais varia de 15 a 16,7. Portanto, a dieta atual no ocidente é deficiente em ácidos graxos da série n-3 e possui quantidade excessiva de n-6, quando

comparadas com a dieta na qual os seres humanos evoluíram e seus padrões genéticos foram estabelecidos.

Com base na dose recomendada para a saúde cardíaca, a demanda de LC-PUFA n-3 é de 1274 milhões de toneladas métricas por ano, enquanto a oferta é estimada em de 0,840 milhões de toneladas métricas por ano, indicando um déficit de 0,434 milhões de toneladas métricas por ano de LC-PUFA n-3 para alimentação humana. Portanto, há uma demanda reprimida global de LC-PUFA n-3 para suprir todas as necessidades humanas, seja por consumo direto ou por aquicultura (TOCHER, 2015).

### ***Problemática da limitada oferta de óleo de peixe***

Devido à estagnação da produção da pesca e aumento do consumo de pescado pela população, a aquicultura surge como alternativa para satisfazer as demandas globais no fornecimento de peixe e frutos do mar, pois estes são a principal fonte de ácidos graxos LC-PUFA n-3, essenciais para a saúde humana (TURQUINI et al., 2009).

No entanto, a adição de óleo de peixe nas rações é necessária para a produção de peixes de criação ricos em ácidos graxos da série n-3, mas este ingrediente é atualmente derivado principalmente da pesca extrativista marinha (TURQUINI et al., 2009). De acordo com estimativas, as rações para aquicultura utilizam como fonte lipídica aproximadamente 87% da oferta global de óleo de peixe (TACON et al., 2006). Os peixes onívoros de água doce, como a carpa e a tilápia, representam o maior grupo de peixes cultivados no mundo, constituindo aproximadamente 75% da produção mundial total de aquicultura de peixes. Apesar das rações comerciais para estas espécies conterem geralmente menos de 5% de lipídios, a grande quantidade produzida torna a indústria de rações um consumidor significativo de óleos de peixe marinhos (TURQUINI et al., 2009). As questões de sustentabilidade são, evidentemente, os principais fatores que limitam a oferta global de óleos e farinhas de peixe. Estas questões terão um impacto crescente nas normas nacionais e internacionais para certificação de ingredientes marinhos, em especial a farinha e óleo de peixe (TOCHER, 2015). Foi justamente a diminuição da disponibilidade global, associada ao preço altamente variável destes insumos, que forçou a indústria da aquicultura a investigar fontes lipídicas alternativas para as rações utilizadas na aquicultura (TURQUINI et al., 2009).

Devido a aquicultura ser um dos segmentos da produção animal que mais cresce no mundo (FAO, 2016), a indústria de alimentos para

aquicultura não pode continuar a depender de reservas finitas de peixes pelágicos marinhos como fonte de óleo de peixe (TURQUINI et al., 2009). Portanto, é imperativo encontrar meios para desvincular a dependência da aquicultura da pesca extrativista. Desta forma, a indústria aquícola poderá se desenvolver como meio sustentável para a produção de peixes de alta qualidade nutricional (TURQUINI et al., 2009). O desafio para a produção aquícola é manter, senão melhorar, os reconhecidos benefícios do peixe para a saúde humana, mas ao mesmo tempo maximizar a sustentabilidade, a saúde dos peixes e os benefícios econômicos. Nos últimos anos, houve grande esforço da pesquisa global na avaliação de fontes lipídicas alternativas para as dietas aquícolas (TURQUINI et al., 2009).

Possíveis substitutos ao óleo de peixe são os óleos vegetais, já que sua produção aumentou consideravelmente e sua inclusão em rações para aquicultura está aumentando no mundo todo (TURQUINI et al., 2009). No entanto, a sua composição de ácidos graxos pode ser um limitante ao seu uso como fonte lipídica exclusiva. Os óleos vegetais são deficientes em LC-PUFA n-3, tais como EPA e DHA, sendo caracterizados por uma proporção n-6/n-3 muito elevada (TURQUINI et al., 2009). Embora a tilápia seja capaz de sintetizar LC-PUFA de 20 e 22 carbonos a partir de seus precursores de 18 carbonos (TOCHER et al., 2002; TEOH et al., 2011), peixes alimentados com altos níveis de óleos vegetais contêm níveis reduzidos de EPA e DHA, o que compromete seu benefício nutricional para o consumidor humano (TOCHER, 2010).

A otimização da biossíntese e retenção de LC-PUFA n-3 em peixes por meio de estratégias nutricionais e seleção genética são abordagens sensatas para o uso eficiente de recursos limitados. No entanto, é improvável que o metabolismo ou a genética dos peixes possam ser modulados ou manipulados suficientemente para compensar reduzidos níveis de EPA e DHA na dieta (TOCHER, 2015). A capacidade de conversão de ácidos graxos pelas tilápias não é suficiente para manter os mesmos níveis de EPA e DHA nos tecidos, comparável aquele atingido quando estas são alimentadas com óleo de peixe (NOBREGA et al., 2017). A maioria dos estudos que examinam o uso de óleos alternativos ao óleo de peixe não mostraram nenhuma redução no crescimento dos peixes, mas mostraram alterações significativas na composição de ácidos graxos dos tecidos dos peixes (GLENCROSS, 2009). Por isso, a principal desvantagem da substituição do óleo de peixe nos alimentos para aquicultura é a consequente modificação da composição de ácidos graxos do músculo dos peixes e perda da característica de promoção da saúde, associada ao consumo de peixe e frutos do mar. Portanto, para a produção



de peixes de criação, ricos em LC-PUFA n-3, é necessária uma fonte dietética rica em LC-PUFA n-3 (TURQUINI et al., 2009).

### ***Schizochytrium* sp. como fonte de DHA**

*Schizochytrium* sp. é o nome dado a um grupo de micro-organismos unicelulares esféricos, heterotróficos, encontrado em habitat marinho. Originalmente pensou-se ser um fungo primitivo e, posteriormente, foi classificado para a subclasse Thraustochytridae, alinhando-o às algas heterocontes (LEWIS et al., 1999). É caracterizado pela alta produção de biomassa em ambiente de cultivo e por possuir alto conteúdo de lipídios, com alta proporção de DHA (LEWIS et al., 1999). Bioquimicamente, *Schizochytrium* sp. é um organismo particularmente interessante, pois parece ter duas vias alternativas para a biossíntese de LC-PUFA n-3: a produção primária de DHA (22:6 n-3), por meio de uma PUFA sintase, com uma série de três genes semelhantes aos encontrados em bactérias marinhas produtoras de LC-PUFA e, ainda, uma série de genes de dessaturases e alongases de PUFA (TOCHER, 2015).

Um exemplo de produto comercial com este organismo é a farinha de *Schizochytrium* sp., conhecido como All-G-Rich<sup>®</sup>, produzida pela empresa Alltech Inc. (Kentucky, EUA) e importada por Alltech do Brasil Agroindustrial LTDA (Araucária, Brasil). A produção do *Schizochytrium* sp. é feita em tanques de cultivo em sistema fechado, o que garante a rastreabilidade do produto e limita o risco de contaminação. O All-G-Rich<sup>®</sup> é produzido através do processo de secagem da biomassa de células inteiras de *Schizochytrium* sp., portanto não é feito o processo de extração do óleo.

Estudos relatam o valor de *Schizochytrium* sp. como fonte dietética de DHA e possível substituto ao óleo de peixe em dietas para aquicultura. Sarker et al. (2016a) relataram que a inclusão de níveis crescentes de *Schizochytrium* sp. em substituição ao óleo de peixe na dieta aumentou a concentração de DHA no músculo de tilápia-do-nilo. Em outro estudo, Sarker et al. (2016b) relataram alto coeficiente de digestibilidade aparente dos lipídios e DHA de *Schizochytrium* sp. para tilápia-do-nilo, concluindo que *Schizochytrium* sp. é um potencial substituto ao óleo de peixe ou ainda possível suplemento de LC-PUFA n-3 em dietas para tilápia-do-nilo. O conteúdo de DHA no músculo de outras espécies de peixes também aumentou com a inclusão de *Schizochytrium* sp. na dieta, tais como a tilápia-de-zanzibar, *Oreochromis honorum* (WATTER et al., 2013), o salmão-do-atlântico, *Salmo salar* (MILLER et al., 2007; GLENCROSS et al., 2014), bagre-do-canal,

*Ictalurus punctatus* (LI et al., 2009) e a perca-de-jade, *Scortum barcoo* (HOESTENBERGHE et al., 2016). Também para crustáceos, *Schizochytrium* sp. é estudado como fonte de DHA. Yamasaki et al. (2007) relatam que o enriquecimento de artêmia com *Schizochytrium* sp. aumentou seu conteúdo de DHA, melhorando o valor nutricional deste alimento vivo. Wang et al. (2017) ao avaliar a suplementação dietética de farinha de *Schizochytrium* sp. em microdietas para larvas de camarão-branco-do-pacífico, *Litopenaeus vannamei*, relataram que a inclusão de 4% de farinha de *Schizochytrium* sp. melhorou o desempenho das larvas.

Portanto, *Schizochytrium* sp. é uma fonte alternativa de DHA para a dieta de organismos aquícolas e pode ser uma forma de melhorar a composição nutricional da tilápia-do-nilo para o consumidor final. Entretanto, é importante aprofundar os estudos para entender como *Schizochytrium* sp. influencia a retenção de ácidos graxos corporal, bem como a composição de ácidos graxos no músculo.

## OBJETIVOS

### Objetivo geral

Avaliar a retenção de ácidos graxos em juvenis de tilápia-do-nylo alimentados com dietas contendo diferentes inclusões de farinha de *Schizochytrium* sp. All-G-Rich<sup>®</sup>, fonte do ácido graxo docosaenoico (DHA).

### Objetivos específicos

- Avaliar a taxa de retenção corporal aparente dos ácidos graxos LOA,  $\alpha$ -LNA, ARA, EPA, DHA, total PUFA n-3 e total PUFA n-6 em juvenis de tilápia-do-nylo alimentados com concentrações crescentes de All-G-Rich<sup>®</sup> na dieta.
- Avaliar o perfil de ácidos graxos no músculo em juvenis de tilápia-do-nylo alimentados com concentrações crescentes de All-G-Rich<sup>®</sup> na dieta.
- Avaliar o peso final, sobrevivência, índices viscerossomático e hepatossomático em juvenis de tilápia-do-nylo alimentados com concentrações crescentes de All-G-Rich<sup>®</sup> na dieta.
- Avaliar a taxa de retenção corporal aparente dos ácidos graxos LOA,  $\alpha$ -LNA, ARA, EPA, DHA, total PUFA n-3 e total PUFA n-6 em juvenis de tilápia-do-nylo alimentados com dietas suplementadas com DHA, comparando duas fontes: All-G-Rich<sup>®</sup> e óleo de fígado de bacalhau.
- Avaliar o perfil de ácidos graxos no músculo em juvenis de tilápia-do-nylo alimentados com dietas suplementadas com DHA, comparando duas fontes: All-G-Rich<sup>®</sup> e óleo de fígado de bacalhau.
- Avaliar o peso final, sobrevivência, índices viscerossomático e hepatossomático em juvenis de tilápia-do-nylo alimentados com dietas suplementadas com DHA, comparando duas fontes: All-G-Rich<sup>®</sup> e óleo de fígado de bacalhau.



## ARTIGO CIENTÍFICO

\* Este artigo está formatado de acordo com as normas para submissão ao periódico *Aquaculture*

### **Farinha de *Schizochytrium* sp. como fonte de DHA na suplementação dietética para tilápia-do-nilo: retenção e perfil de ácidos graxos**

Fernando D. Brignol<sup>a</sup>, Vitor G. Fernandes<sup>a</sup>, Renata O. Nóbrega<sup>a</sup>, Camila F. Corrêa<sup>b</sup>, Débora M. Fracalossi<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, SC, Brasil

<sup>b</sup> Polo Regional do Vale do Ribeira, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Pariquera-Açu, SP, Brasil

<sup>a\*</sup>Autor correspondente: Departamento de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, UFSC, Rodovia Admar Gonzaga, 1346, CEP 88034-001, Florianópolis, SC, Brasil, Tel/Fax: +55 48 3721-6300. Email: debora.fracalossi@ufsc.br

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a farinha de *Schizochytrium* sp. (All-G-Rich®) como fonte de ácido docosaexaenoico (DHA) em dietas para juvenis de tilápia-do-nilo, quanto à retenção de ácidos graxos corporais e composição de ácidos graxos no músculo. A farinha de *Schizochytrium* sp. foi testada em quatro níveis (0,5; 1,0; 2,0 e 4,0% da dieta na matéria seca), além de uma dieta sem inclusão de farinha de *Schizochytrium* sp. (0% All-G-Rich®), em delineamento inteiramente ao acaso (DIC), com cinco tratamentos e cinco repetições. Ainda, a dieta com 1% de farinha de *Schizochytrium* sp. foi comparada com uma dieta controle, contendo quantidade equivalente de DHA, mas na forma de 1,7% de óleo de fígado de bacalhau, na matéria seca (OFB), em DIC, com dois tratamentos e cinco repetições. Os juvenis de tilápia ( $8,35 \pm 0,80$  g) foram alimentados duas vezes ao dia até saciedade aparente, em unidades experimentais de 100 L estocadas com 25 peixes cada, em sistema de recirculação e temperatura controlada da água (28°C), durante 57 dias. Ao final do experimento foi possível observar uma redução na retenção corporal dos ácidos graxos DHA e total PUFA n-3 e aumento na retenção corporal de  $\alpha$ -LNA, LOA e total PUFA n-6 em juvenis de tilápia, devido ao aumento da inclusão da farinha de *Schizochytrium* sp. nas dietas. A composição de ácidos graxos no músculo da tilápia foi afetada pelas inclusões crescentes de farinha de *Schizochytrium* sp. na dieta, com aumento nas quantidades de DHA,  $\alpha$ -LNA, PUFA n-3 e LC-PUFA n-3 e diminuição de MUFA, PUFA n-6 e LC-PUFA n-6. Ao comparar a retenção corporal dos ácidos graxos entre os peixes alimentados com fontes equivalentes em DHA na dieta, farinha de *Schizochytrium* sp. e OFB, observou-se maior retenção corporal para os ácidos graxos DHA,  $\alpha$ -LNA, LOA, PUFA n-3 e PUFA n-6 nos peixes alimentados com a dieta contendo OFB. Igualmente, juvenis alimentados com a dieta OFB apresentaram maior conteúdo DHA, PUFA n-3 e LC-PUFA n-3 e menor conteúdo de SFA, PUFA n-6 e LC-PUFA n-6 na composição de ácidos graxos no músculo. Conclui-se que apesar da redução da taxa de retenção corporal de DHA em juvenis de tilápia-do-nilo com o aumento da farinha de *Schizochytrium* sp. na dieta, ocorreu aumento do conteúdo de DHA e melhora da relação n-3/n-6 PUFA no músculo dos peixes. Portanto, a farinha de *Schizochytrium* sp. pode ser considerada uma fonte alternativa de DHA em dietas para a tilápia-do-nilo.

Palavras-chave: *Oreochromis niloticus*, nutrição, PUFA, relação n-3/n-6, aquicultura.

## 1 Introdução

A aquicultura é um dos segmentos da produção animal que mais cresce no mundo. Em 2013, o pescado proveniente da aquicultura e da pesca representou ao redor de 17% da ingestão de proteínas animais e 6,7% das proteínas totais consumidas pela população mundial (FAO, 2016). Devido à estagnação da produção da pesca e aumento do consumo de pescado pela população, a aquicultura surge como alternativa para satisfazer as demandas globais no fornecimento de peixes e frutos do mar (Turquini et al., 2009). Com isso, em 2014, pela primeira vez, a contribuição do setor aquícola para o consumo de pescado superou a contribuição dada pela pesca extrativista (FAO, 2016).

O pescado é fonte quase que exclusiva de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (LC-PUFA) da série n-3, tais como o ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) e o ácido docosaexaenoico (DHA, 22:6 n-3), na alimentação humana. Estes ácidos graxos têm efeitos benéficos em várias patologias e são essenciais para a saúde e o bem estar humano (Ruxton et al., 2005; NRC, 2011). Dietas com adequada relação de ácidos graxos da série n-3 e n-6 contribuem para a redução do risco de muitas das doenças crônicas de alta prevalência nas sociedades ocidentais. Porém, a dieta ocidental atual é deficiente em ácidos graxos n-3 em comparação com aquela em que os seres humanos evoluíram nas quais seus padrões genéticos foram estabelecidos (Simopoulos, 2002).

A tilápia-do-nilo é uma das espécies mais produzidas na piscicultura mundial (FAO, 2016). Com isso, tem grande contribuição para o crescimento da aquicultura e oferta de pescado. Embora a tilápia-do-nilo seja capaz de sintetizar LC-PUFA de 20 e 22 carbonos a partir de seus precursores de 18 carbonos (Tocher et al., 2002; Teoh et al., 2011), suas exigências fisiológicas para crescimento ótimo podem não ser as mesmas para manutenção da sua qualidade nutricional para consumo humano (Tocher, 2010). Para satisfazer este nível de exigência para qualidade da carne, recomenda-se que EPA e DHA sejam fornecidos em excesso em relação à exigência dietética dos peixes para desempenho produtivo, para que estes ácidos graxos sejam depositados e armazenados (Tocher, 2015).

O óleo de peixe é a principal fonte dietética de LC-PUFA n-3 em rações para aquicultura e este insumo é derivado principalmente da pesca extrativista marinha (Turquini et al., 2009). Porém, a indústria de rações para aquicultura não pode continuar a depender de reservas finitas de peixes pelágicos marinhos (Turquini et al., 2009). Possíveis substitutos ao óleo de peixe são os óleos vegetais, no entanto, estes são deficientes

em LC-PUFA n-3, sendo caracterizados por uma proporção n-6/n-3 muito elevada (Turquini et al., 2009). Peixes alimentados com altos níveis de óleos vegetais possuem níveis reduzidos de EPA e DHA corporal, comprometendo seu benefício nutricional para o consumidor humano (Tocher, 2010). Portanto, para a produção de peixes ricos em LC-PUFA n-3, é necessária uma fonte dietética sustentável, rica em LC-PUFA n-3 (Turquini et al., 2009).

*Schizochytrium* sp. é um micro-organismo unicelular esférico, heterotrófico, encontrado em habitat marinho. É caracterizado pela alta produção de biomassa em ambiente de cultivo, alto conteúdo de lipídios, com alta proporção de DHA (Lewis et al., 1999). A farinha de *Schizochytrium* sp. (All-G-Rich<sup>®</sup>) é produzida em tanques, em sistema fechado, que garantem a sustentabilidade e rastreabilidade do produto, além de limitado risco de contaminação. Esta farinha é obtida através do processo de secagem da biomassa de células inteiras, não sendo necessária a extração do óleo. Vários estudos relatam o uso de *Schizochytrium* sp. como fonte dietética de DHA e possível substituto ao óleo de peixe em dietas para aquicultura. Sarker et al. (2016) relataram que a inclusão de níveis crescentes de *Schizochytrium* sp. em substituição ao óleo de peixe na dieta aumentou a concentração de DHA no músculo da tilápia-do-nilo. O conteúdo de DHA no músculo de outras espécies de peixes também aumentou com a inclusão de *Schizochytrium* sp. na dieta, tais como a tilápia-de-zanzibar, *Oreochromis honorum* (Watters et al., 2013); o salmão-do-atlântico, *Salmo salar* (Miller et al., 2007; Glencross et al., 2014), o bagre-do-canal, *Ictalurus punctatus* (Li et al., 2009) e a perca-de-jade, *Scortum barcoo* (Hoestenbergh et al., 2016).

Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo avaliar a retenção de ácidos graxos corporais e composição de ácidos graxos no músculo de juvenis de tilápia-do-nilo, alimentados com concentrações crescentes de farinha de *Schizochytrium* sp. como fonte de DHA na dieta. Adicionalmente, visa comparar a retenção de ácidos graxos corporais e composição de ácidos graxos no músculo em tilápias alimentadas com dietas contendo duas fontes equivalentes de DHA: farinha de *Schizochytrium* sp. e óleo de fígado de bacalhau.



## 2 Materiais e métodos

### 2.1 Delineamento e dietas experimentais

Foram testadas, como fonte de ácido graxo docosaenoico (DHA), concentrações crescentes da farinha de *Schizochytrium* sp. All-G-Rich® (Alltech, EUA, Tabela 2) na dieta da tilápia-do-nilo, além de um tratamento com óleo de fígado de bacalhau (OFB). O All-G-Rich® foi testado em quatro níveis (0,5; 1,0; 2,0 e 4,0% da dieta na matéria seca), além de uma dieta sem inclusão de farinha de *Schizochytrium* sp. (0% de All-G-Rich®), em delineamento inteiramente ao acaso (DIC), com cinco tratamentos e cinco repetições para cada tratamento. O tratamento controle OFB, com óleo de fígado de bacalhau em 1,7% da dieta na matéria seca, foi comparado apenas com a suplementação de All-G-Rich® em 1% da dieta, em DIC com dois tratamentos e cinco repetições. A dieta OFB continha concentração de DHA semelhante à dieta 1,0% All-G-Rich®, para possibilitar a comparação do efeito da farinha de *Schizochytrium* sp. com uma fonte tradicional de DHA.

Foram formuladas seis dietas experimentais (Tabela 3) com ingredientes práticos e os ingredientes teste para atender às exigências nutricionais de juvenis de tilápia-do-nilo (NRC, 2011; Furuya et al., 2012). As dietas foram isonitrogenadas, isoenergéticas e isolipídicas. Foram mantidas proporções semelhantes dos ácidos graxos linoleico (LOA), alfa-linolênico ( $\alpha$ -LNA) e PUFA n-6 entre as dietas experimentais (Tabela 4). Para aumentar a concentração de DHA e manter as mesmas concentrações de LOA,  $\alpha$ -LNA e PUFA n-6 nas dietas, substituiu-se a banha suína por All-G-Rich® e óleo de milho, ou por óleo de fígado de bacalhau e óleo de milho na dieta controle.

Tabela 2 Composição da farinha de *Schizochitryum* sp. All-G-Rich®<sup>1</sup>.

| <b>Composição centesimal</b>               | <b>% da matéria seca</b>                       |
|--|--|
| Matéria seca                               | 98,65  |
| Proteína bruta                             | 11,18  |
| Extrato etéreo                             | 44,67  |
| Matéria mineral                            | 3,25   |
| <b>Perfil de ácidos graxos</b>             | <b>% do total de ácidos graxos<sup>2</sup></b> |
| Ácido palmítico, 16:0                      | 57,66  |
| Ácido docosaenoico, 22:6n-3                | 23,98  |
| <b>Grupos de ácidos graxos<sup>3</sup></b> | <b>% do total de ácidos graxos</b>             |
| ΣSFA                                       | 66,63  |
| ΣMUFA                                      | 1,07   |
| ΣPUFA n-3                                  | 25,06  |
| ΣPUFA n-6                                  | 5,75   |
| ΣLC-PUFA n-3                               | 25,06  |
| ΣLC-PUFA n-6                               | 5,53   |
| n-3/n-6                                    | 4,36   |

<sup>1</sup> Produzido por Alltech Inc. (Kentucky, EUA) e importado por Alltech do Brasil Agroindustrial LTDA (Araucária, Brasil).

<sup>2</sup> Ácidos graxos detectados e totalizados: 10:0, 12:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 22:0, 16:1n-7, 22:1n-11, 18:3n-6, 20:3n-6, 20:4n-3, 20:5n-3, 22:4n-6, 22:5n-3, 22:6n-3.

<sup>3</sup> Grupos de ácidos graxos: ΣSFA= saturados, ΣMUFA= monoinsaturados, ΣPUFA= poli-insaturados, ΣLC-PUFA= poli-insaturados de cadeia longa (20 a 22 carbonos).

Tabela 3 Formulação e composição centesimal das dietas experimentais (% da matéria seca).

| Ingredientes                            | Dietas  |       |       |       |       |                            |
|---|---|-------|-------|-------|-------|----------------------------|
|   | Inclusão de All-G-Rich® na dieta, % da matéria seca |       |       |       |       | Óleo de fígado de bacalhau |
|   | 0   | 0,5   | 1,0   | 2,0   | 4,0   |                            |
| Farelo de soja                          | 48,10   | 47,85 | 47,60 | 47,10 | 46,10 | 47,60                      |
| Milho                                   | 32,00   | 31,91 | 31,83 | 31,65 | 31,30 | 32,25                      |
| Farinha de vísceras de aves             | 16,90   | 16,90 | 16,90 | 16,90 | 16,90 | 16,90                      |
| Premix vitamínico-mineral <sup>1</sup>  | 1,00  | 1,00  | 1,00  | 1,00  | 1,00  | 1,00                       |
| Banha suína <sup>2</sup>                | 2,00  | 1,75  | 1,50  | 1,00  | -     | -                          |
| All-G-Rich® <sup>3</sup>                | -   | 0,50  | 1,00  | 2,00  | 4,00  | -                          |
| Óleo de milho <sup>4</sup>              | -   | 0,09  | 0,17  | 0,35  | 0,70  | 0,55                       |
| Óleo de fígado de bacalhau <sup>5</sup> | -   | -     | -     | -     | -     | 1,70                       |
| <b>Composição centesimal</b>            |   |       |       |       |       |                            |
| Matéria seca                            | 91,95   | 90,49 | 90,52 | 90,97 | 90,53 | 90,14                      |
| Proteína bruta                          | 37,39   | 37,85 | 38,40 | 37,67 | 37,37 | 37,62                      |
| Lipídios                                | 7,08  | 7,2   | 7,56  | 7,58  | 8,01  | 6,19                       |
| Matéria mineral                         | 6,32  | 6,23  | 6,39  | 6,12  | 6,11  | 6,47                       |
| Energia bruta (kcal/kg)                 | 4931  | 5144  | 5139  | 5160  | 5259  | 5178                       |
| Ácido docosaexaenoico, 22:6n-3          | -   | 0,08  | 0,17  | 0,31  | 0,62  | 0,14                       |
| ΣPUFA <sup>6</sup> n-3                  | 0,10  | 0,19  | 0,27  | 0,41  | 0,75  | 0,38                       |
| ΣPUFA n-6                               | 2,09  | 2,12  | 2,17  | 2,01  | 2,08  | 1,53                       |

<sup>1</sup> Premix vitamínico-mineral Poli- Nutri (Brasil), composição por kg: vit. (vitamina) A 1.000.000 UI, vit. D<sub>3</sub> 500.000 UI, vit. E 20.000 UI, vit. K<sub>3</sub> 500 mg, vit. B<sub>1</sub> 500 mg, vit. B<sub>2</sub> 1.750 mg, vit. B<sub>6</sub> 1.125 mg, vit. B<sub>12</sub> 3.750 mg, niacina 5.000 mg, pantotenato de cálcio 5.000mg, ácido fólico 250 mg, biotina 50 mg, ferro 13,75 g, cobre 2.000 mg, manganês 3.750 mg, zinco 25 g, cobalto 25 mg, iodo 100 mg, selênio 75 mg.

<sup>2</sup> Produzida por Seara Alimentos LTDA (Brasil).

<sup>3</sup> Farinha de *Schizochitryum* sp., produzido por Alltech Inc. (EUA) e importado por Alltech do Brasil Agroindustrial LTDA (Brasil).

<sup>4</sup> Marca Suavit, produzido por Cocamar Cooperativa Agroindustrial (Brasil).

<sup>5</sup> Marca Möllers Tran, produzido por Orkla Health (Noruega).

<sup>6</sup> Total de ácidos graxos poli-insaturados.

Tabela 4 Composição de ácidos graxos das dietas experimentais (% do total de ácidos graxos<sup>1</sup>).

| Ácidos graxos selecionados                 | Dietas   |       |       |       |       | Óleo de fígado de bacalhau |
|--|--|-------|-------|-------|-------|----------------------------|
|  | Inclusão de All-G-Rich <sup>®3</sup> na dieta, % da matéria seca |       |       |       |       |                            |
|  | 0  | 0,5   | 1,0   | 2,0   | 4,0   |                            |
| Linoleico, 18:2 n-6                        | 27,76  | 26,95 | 26,68 | 25,17 | 24,03 | 27,22                      |
| α-linolênico, 18:3 n-3                     | 1,38   | 1,37  | 1,32  | 1,21  | 1,14  | 1,47                       |
| Araquidônico, 20:4 n-6                     | ND <sup>4</sup>  | ND    | ND    | ND    | ND    | ND                         |
| Eicosapentaenoico, 20:5 n-3                | ND   | ND    | ND    | 0,07  | 0,12  | 1,80                       |
| Docosaexaenoico, 22:6 n-3                  | ND   | 1,08  | 2,15  | 4,08  | 7,89  | 2,53                       |
| <b>Grupos de ácidos graxos<sup>2</sup></b> |  |       |       |       |       |                            |
| ΣSFA                                       | 28,85  | 29,97 | 30,71 | 35,91 | 38,07 | 20,17                      |
| ΣMUFA                                      | 37,52  | 35,33 | 33,71 | 30,14 | 23,78 | 38,40                      |
| ΣPUFA n-3                                  | 1,38   | 2,45  | 3,47  | 5,46  | 9,55  | 6,93                       |
| ΣPUFA n-6                                  | 28,37  | 27,91 | 27,82 | 26,73 | 26,35 | 27,81                      |
| ΣLC-PUFA n-3                               | ND   | 1,08  | 2,15  | 4,25  | 8,41  | 4,87                       |
| ΣLC-PUFA n-6                               | 0,39   | 0,73  | 0,90  | 1,34  | 2,09  | 0,39                       |
| n-3/n-6                                    | 0,05   | 0,09  | 0,12  | 0,20  | 0,36  | 0,25                       |

<sup>1</sup> Ácidos graxos detectados e totalizados (com variações entre tratamentos): 8:0, 10:0, 12:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 22:0, 24:0, 14:1n-5, 16:1n-7, 17:1n-7, 18:1n-7, 18:1n-9, 20:1n-9, 20:1n-11, 22:1n-9, 22:1n-11, 24:1n-9, 16:2n-4, 16:3n-4, 18:2n-6, 18:3n-3, 18:3n-6, 18:4n-3, 20:2n-6, 20:3n-6, 20:4n-3, 20:5n-3, 22:3n-3, 22:4n-6, 22:5n-3, 22:6n-3.

<sup>2</sup> Grupos de ácidos graxos:  $\Sigma$ SFA= saturados,  $\Sigma$ MUFA= monoinsaturados,  $\Sigma$ PUFA= poli-insaturados,  $\Sigma$ LC-PUFA= poli-insaturados de cadeia longa (20 a 22 carbonos).

<sup>3</sup> Farinha de *Schizochitryum* sp., produzido por Alltech Inc. (Kentucky, EUA) e importado por Alltech do Brasil Agroindustrial LTDA (Araucária, Brasil).

<sup>4</sup> Não detectado (< 0,05%), considerado como “zero”.

Os ingredientes, moídos (1 mm, moinho de martelo) e peneirados (0,6 mm, peneira manual), foram pesados em balança semi-analítica e homogeneizados em misturador horizontal por 15 min. Em seguida, os óleos foram incorporados e misturados por mais 15 min. Ao final, a umidade foi ajustada com água destilada (23%) para a extrusão em extrusora piloto de rosca única Modelo MX40 (INBRAMAQ, Ribeirão Preto, Brasil). Os parâmetros de extrusão foram: temperatura: 100 °C, taxa de fluxo: 20 % da capacidade nominal, velocidade da rosca: 220 rpm, razão L/D: 2.3:1; diâmetro da rosca: 92.5 mm, comprimento do cilindro: 210 mm. Após a extrusão, os péletes foram secos (50°C) em estufa de circulação de ar forçado até atingir 8% de umidade. Foram obtidos ao

final péletes de 2 a 3 mm. As dietas foram acondicionadas em recipientes hermeticamente fechados, com ausência de luz, e armazenadas em uma sala refrigerada (4°C) para evitar oxidação e perdas de ácidos graxos. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia (09:00 e 16:00 h) até a saciedade aparente por 57 dias.

## 2.2 Material biológico e condições experimentais

Foram utilizados 750 juvenis de tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*) da linhagem GIFT, invertidos sexualmente para macho, adquiridos de uma piscicultura comercial (ACQUA SUL, Santa Catarina). O manejo dos peixes seguiu o protocolo n° PP00815, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA, UFSC).

Os peixes foram aclimatados por duas semanas às condições experimentais. Na primeira semana foram estocados em duas caixas de 1.000L para a adaptação ao sistema de recirculação de água e, na segunda semana, alocados nas unidades experimentais no mesmo sistema. Durante o período de aclimação, os peixes foram alimentados com a dieta experimental com 0% de inclusão de All-G-Rich®, duas vezes ao dia até saciedade aparente.

O peso inicial dos peixes foi  $8,35 \pm 0,80$  g (média  $\pm$  desvio padrão) e a densidade 25 peixes por unidade experimental. Foram utilizadas como unidades experimentais 30 caixas plásticas retangulares de cor azul, com volume útil de 100 L, acopladas a um sistema de recirculação de água fechado, com filtragem biológica e mecânica, temperatura controlada (28°C) e aeração constante. O fotoperíodo foi ajustado para 12 h:12 h (período de luz:escuro) e a intensidade de luz foi de  $9 \pm 2$  lux (média  $\pm$  desvio padrão). A vazão de entrada de água nas unidades experimentais foi de  $540 \text{ mL min}^{-1}$ , proporcionando renovação total da água oito vezes ao dia. Diariamente foram registrados o consumo das dietas e as mortalidades. As variáveis indicadoras da qualidade da água temperatura, oxigênio dissolvido e pH foram monitorados diariamente e a amônia total e nitrito, uma vez por semana. Os valores (média  $\pm$  desvio padrão) encontrados foram: temperatura  $27,84 \pm 0,36^\circ\text{C}$ ; oxigênio dissolvido  $5,19 \pm 0,57 \text{ mg L}^{-1}$ ; pH  $6,98 \pm 0,22$ ; amônia total  $0,65 \pm 0,10 \text{ mg L}^{-1}$ ; nitrito  $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ . Todos os parâmetros se mantiveram dentro da faixa de conforto para a espécie (Popma & Lovshin, 1995).

## 2.3 Análise da composição centesimal e energia dos ingredientes e dietas experimentais

A composição centesimal dos ingredientes e dietas foi determinada de acordo com métodos da AOAC (1999): proteína bruta (Kjeldahl, fator de correção 6,25, método 945.01), lipídeos (Soxhlet, método 920.39C), matéria mineral (mufla a 550°C, método 942.05) e matéria seca (105°C até peso constante, método 950.01). A análise de energia bruta foi determinada em bomba calorimétrica marca PARR, modelo ASSY 6200, de acordo com as instruções do fabricante.

## 2.4 Avaliação dos índices corporais

Foram realizadas biometrias no início e ao final do experimento para obtenção do peso inicial e peso final, além biometrias intermediárias, a cada 15 dias, para acompanhamento do crescimento dos peixes. Para as biometrias inicial e intermediárias, antes das medições, os peixes experimentais foram privados de alimento por 24 h e anestesiados com Eugenol a 100 mg L<sup>-1</sup> (Biodinâmica Química e Farmacêutica Ltda, Ibiporã, PR, Brasil). Os peixes foram pesados em balança semi-analítica e os pesos registrados. Para biometria final, antes das medições, os peixes foram privados de alimento durante 24 h, eutanizados via sobredosagem de Eugenol a 200 mg/L<sup>-1</sup>, seguido de secção da coluna vertebral. Em seguida foram dissecados, vísceras e fígado foram pesados em balança semi-analítica (n = 5), os respectivos pesos foram registrados e os índices viscerossomático (1) e hepatossomático (2) foram calculados.

$$\text{IVS (\%)} = (\text{peso das vísceras} / \text{peso corporal}) \times 100 \quad (1)$$

$$\text{IHS (\%)} = (\text{peso do fígado} / \text{peso corporal}) \times 100 \quad (2)$$

## 2.5 Análise do perfil de ácidos graxos corporal, do músculo e das dietas

O perfil de ácidos graxos foi determinado nas dietas experimentais no início e final do experimento, a fim de avaliar possíveis perdas por oxidação durante o período experimental. Antes da confecção das dietas, todos os ingredientes também foram analisados quanto ao perfil de ácidos graxos.

Para análise do perfil de ácidos graxos corporais, foram coletados três grupos de 17 peixes no início do experimento (logo após a

aclimação) e, ao final, cinco peixes por unidade experimental. Para análise do perfil de ácidos graxos do músculo, foram coletados cinco peixes por unidade experimental no final do experimento. Antes da amostragem, os peixes foram privados de alimento durante 24 h, eutanaziados via sobredosagem de Eugenol a 200 mg L<sup>-1</sup>, seguido de secção da coluna vertebral. As amostras coletadas foram liofilizadas, homogeneizadas e armazenadas a -80°C até a realização das análises.

As análises de ácidos graxos foram conduzidas no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquícolas (LABNUTRI, UFSC) em parceria com o Laboratório de Morfogênese e Bioquímica Vegetal (LMBV, UFSC). Brevemente, os lipídios das amostras (ingredientes, dietas, corpo inteiro e músculo) foram extraídos a frio e quantificados pelo método de Folch et al. (1957), modificado por Ways e Hanahan (1964). Em seguida, os ácidos graxos foram esterificados usando o método de O'Fallon et al. (2007) e separados por cromatografia gasosa com coluna capilar (GC-2014, Shimadzu, Kyoto, Japan) equipado com coluna capilar (RTX®2330, 90% biscyanopropyl/10% phenylcyanopropyl polysiloxane, 105 m × 0.25 mm ID, 0.20- μ m film thickness; Restek®, Bellefont, USA). Os demais parâmetros operacionais foram os utilizados por Correa et al. (2016). Para a identificação e quantificação, os tempos de retenção e áreas dos ácidos graxos foram comparados com padrões externos (37 Component FAME Mix e PUFA No.3 - from menhaden oil, Supelco, Bellefonte) e o padrão interno 23:0 (Tricosanoic acid, Sigma, Saint Louis). As áreas dos picos foram corrigidas pelo fator de correção teórico do detector de ionização em chama (Visentainer & Franco, 2006).

## 2.6 Taxa de retenção corporal aparente

Foram calculadas as taxas de retenção corporal aparente dos ácidos graxos LOA, α-LNA e DHA, e também dos grupos ΣPUFA n-3 e ΣPUFA n-6, seguindo metodologia proposta por Glencross et al. (2003) de acordo com a equação abaixo:

$$TRA = \{ [(P_f \times AC_f) - (P_i \times AC_i)] / I_A \} \times 100$$

Onde:

$P_f$ : peso final (g)

$P_i$ : peso inicial (g)

$AC$ : ácido graxo corporal inicial ou final (g 100g<sup>-1</sup>)

$I_A$ : ingestão total do ácido graxo (g)

## 2.7 Análise estatística

Todos os dados obtidos foram testados quanto à independência, normalidade e homocedasticidade. Para avaliar o efeito das concentrações crescentes de All-G-Rich® na dieta sobre a taxa de retenção corporal aparente de ácidos graxos, perfil de ácidos graxos no músculo, índices viscerossomático e hepatossomático, sobrevivência e peso final, os dados foram submetidos à análise de regressão simples (com exceção da dieta controle com óleo de fígado de bacalhau).

Os dados dos peixes alimentados com a dieta contendo óleo de fígado de bacalhau foram comparados apenas com o tratamento 1,0 % All-G-Rich®, utilizando-se o teste de T.

O nível de significância adotado foi de 5% para todos os testes.

## 3 Resultados

A taxa de retenção corporal aparente de ácidos graxos nos juvenis de tilápia-do-nylo foi influenciada pelos níveis de inclusão de All-G-Rich® na dieta (Tabela 5, Figura 1). A regressão polinomial quadrática foi a que melhor se ajustou aos resultados. Houve redução na retenção corporal de DHA com a inclusão da farinha de *Schizochytrium* sp. na dieta, onde a maior taxa de retenção foi encontrada na menor inclusão de 0,5%. A dieta 0% All-G-Rich® não continha DHA e, portanto, neste tratamento não foi calculado a taxa de retenção de DHA. Por outro lado, as taxas de retenção corporal de  $\alpha$ -LNA e LOA aumentaram com a inclusão de All-G-Rich® na dieta, com um incremento de 19% e 16% de retenção, respectivamente, em juvenis alimentados com a maior inclusão de *Schizochytrium* sp. em relação à dieta sem inclusão ou 0% All-G-Rich®.

O EPA e o ARA também são considerados ácidos graxos essenciais para algumas espécies de peixes, mas suas taxas de retenção não foram calculadas para a tilápia. A avaliação da taxa de retenção foi inviável para estes ácidos graxos pois o EPA não foi detectado nas dietas 0 e 1% All-G-Rich®, e o ARA não foi detectado em nenhuma das dietas estudadas.

A taxa de retenção corporal de PUFA n-3 nos peixes se comportou de forma similar à taxa de retenção de DHA, com decréscimo em relação à inclusão de All-G-Rich® na dieta (Tabela 5, Figura 1). A taxa de retenção de PUFA n-6, se comportou de forma similar à taxa de retenção de LOA, porém com um incremento de apenas 10% na dieta com maior inclusão de All-G-Rich® em relação à dieta sem adição de All-G-Rich®.



Tabela 5 Taxa de retenção corporal aparente de ácidos graxos em juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com concentrações crescentes de All-G-Rich® na dieta por 57 dias.

| Retenção corporal,<br>%      | Inclusão de All-G-Rich® na dieta,<br>% matéria seca |       |       |       |       | <i>Pooled</i><br>SEM <sup>2</sup> | R <sup>2</sup> | P <sup>3</sup> |
|------------------------------|---|-------|-------|-------|-------|-----------------------------------|----------------|----------------|
|                              | 0   | 0,5   | 1,0   | 2,0   | 4,0   |                                   |                |                |
| Linoleico, 18:2n-6           | 48,19   | 54,51 | 58,43 | 63,27 | 64,46 | 6,00                              | 0,99           | < 0,001        |
| α-linolênico, 18:3n-3        | 44,07   | 50,50 | 61,33 | 64,38 | 63,96 | 8,70                              | 0,96           | < 0,001        |
| Docosaexaenoico,<br>22:6 n-3 | -   | 75,49 | 64,26 | 66,71 | 52,17 | 11,02                             | 0,83           | 0,01           |
| ΣPUFA <sup>1</sup> n-3       | 72,48   | 65,21 | 66,68 | 66,56 | 53,15 | 12,72                             | 0,75           | 0,04           |
| ΣPUFA n-6                    | 60,06   | 64,86 | 67,91 | 72,59 | 70,28 | 6,94                              | 0,94           | 0,007          |

<sup>1</sup> Total de ácidos graxos poli-insaturados.

<sup>2</sup> Erro padrão da média.

<sup>3</sup> A regressão polinomial quadrática das médias dos tratamentos gerou as seguintes equações para a taxa de retenção corporal de cada ácido graxo ou grupo: linoleico  $y = -0,6672x^2 + 8,1341x + 40,7$ ; α-linolênico  $y = -1,5343x^2 + 14,572x + 30,0$ ; docosaexaenoico  $y = -0,8283x^2 - 2,61x + 77,40$ ; PUFA n-3  $y = -0,9898x^2 + 2,2083x + 69,08$ ; PUFA n-6  $y = -0,8994x^2 + 8,2114x + 52,40$ .

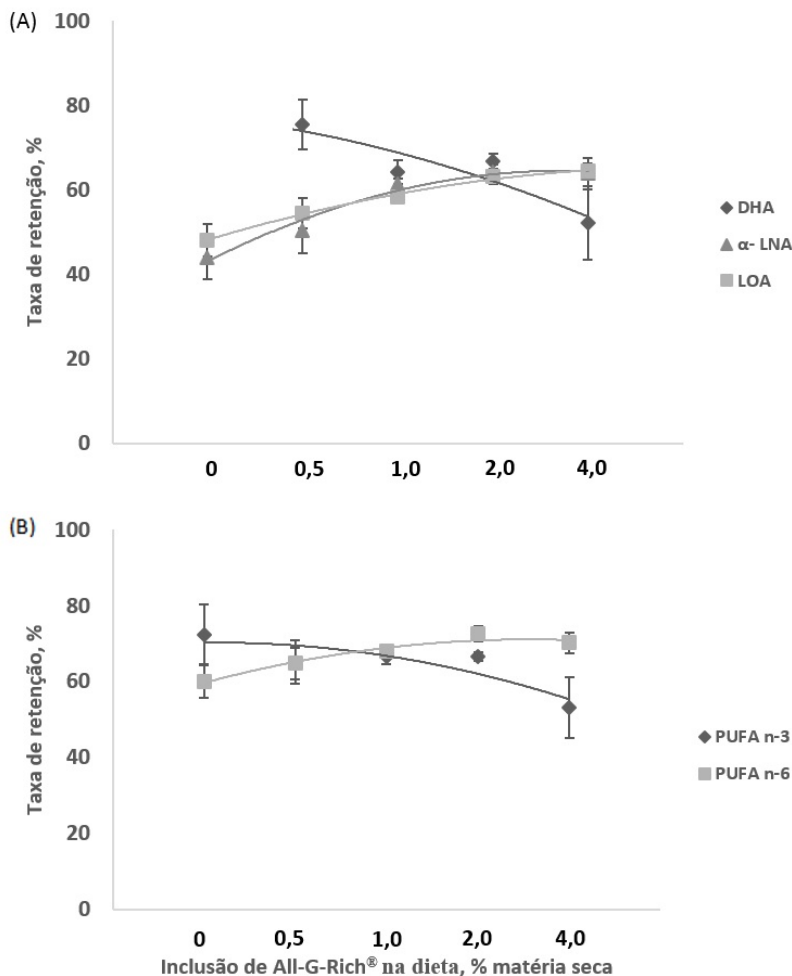


Figura 1. (A) Taxa de retenção corporal aparente de DHA, α-LNA e LOA e (B) ΣPUFA n-3 e ΣPUFA n-6 (média ± erro padrão) em juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com concentrações crescentes de All-G-Rich® na dieta por 57 dias.

Ao comparar as tilápias do tratamento 1% All-G-Rich® e as tilápias do tratamento OFB, foram observadas diferenças significativas para a taxa de retenção corporal aparente de DHA, α-LNA, LOA, PUFA n-3 e PUFA n-6, onde o tratamento OFB foi superior para todas as taxas

de retenção avaliadas. A superioridade do tratamento OFB foi mais visível na taxa de retenção corporal de DHA, com um incremento de 48,74% na retenção em relação ao tratamento 1% All-G-Rich®, sendo que a tilápia alimentada com óleo de fígado de bacalhau (OFB) teve taxa de retenção acima de 100% de DHA. Quando avaliados em conjunto todos os ácidos graxos poli-insaturados da série n-3 (PUFA n-3), o que inclui o DHA, observamos menor diferença entre as tilápias do tratamento com All-G-Rich® e o tratamento OFB, entretanto ainda houve superioridade do tratamento OFB com 8,73% mais retenção que o tratamento 1% All-G-Rich® (Tabela 6).

Tabela 6 Taxa de retenção corporal aparente de ácidos em juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com duas fontes de DHA na dieta, All-G-Rich® ou óleo de fígado de bacalhau, por 57 dias.

| Retenção corporal, %   | Dietas <sup>2</sup> |                            | Pooled SEM <sup>3</sup> | P       |
|------------------------|---------------------|----------------------------|-------------------------|---------|
|                        | All-G-Rich®         | Óleo de fígado de bacalhau |                         |         |
| Linoleico, 18:2n-6     | 58,43               | 81,46                      | 2,59                    | < 0,001 |
| α-linolênico, 18:3n-3  | 61,33               | 78,00                      | 3,01                    | < 0,001 |
| Docosaenoico, 22:6 n-3 | 64,26               | 113,01                     | 6,30                    | < 0,001 |
| ΣPUFA <sup>1</sup> n-3 | 66,68               | 75,40                      | 3,57                    | 0,04    |
| ΣPUFA n-6              | 67,91               | 92,41                      | 2,88                    | < 0,001 |

<sup>1</sup> Total de ácidos graxos poli-insaturados

<sup>2</sup> Dietas com conteúdo similar de DHA: All-G-Rich® = inclusão de 1% de All-G-Rich® na dieta (% , matéria seca) e óleo de fígado de bacalhau = inclusão de 1,7% deste óleo na dieta (% , matéria seca).

<sup>3</sup> Erro padrão da média

A inclusão de All-G-Rich® na dieta influenciou diretamente a composição do perfil de ácidos graxos no músculo dos juvenis de tilápia-do-nilo, onde foram observados efeitos lineares e quadráticos (Tabela 7). O efeito mais evidente foi observado no conteúdo de DHA, com aumento de sete vezes quando avaliado em porcentagem do total ácidos graxos (Tabela 7) e oito vezes quando avaliado em valor absoluto (Figura 2), nos peixes alimentados com a dieta contendo a maior inclusão de All-G-Rich® em relação aqueles alimentados com a dieta sem inclusão do aditivo. Este aumento também foi registrado para o α-LNA, porém com um incremento mais discreto. Já o EPA foi detectado apenas no músculo dos peixes alimentados com as dietas contendo os dois maiores níveis de inclusão da farinha de *Schizochytrium* sp.. A composição de LOA no músculo não foi afetada significativamente pelo aumento da adição de All-G-Rich® nas

dietas; entretanto, o conteúdo de ARA diminui no músculo com o aumento de inclusão do aditivo na dieta.

Houve efeito significativo das dietas no perfil dos grupos de ácidos graxos do músculo da tilápia, exceto para o SFA (Tabela 7). A inclusão de All-G-Rich® na dieta causou redução dos ácidos graxos MUFA, PUFA n-6 e LC-PUFA n-6. Ao contrário, foi observado aumento de PUFA n-3 e LC-PUFA n-3 no perfil do músculo com aumento de All-G-Rich®, principalmente devido ao aumento de DHA no músculo.

A relação n-3/n-6 PUFA no músculo teve um aumento significativo com os níveis crescentes de All-G-Rich® na dieta (Tabela 7, Figura 2), variando de 0,10 a 0,56. A adição crescente de All-G-Rich® nas dietas não afetou o total de lipídios no músculo.

Tabela 7 Perfil de ácidos graxos no músculo em juvenis de tilápia-do-nylo alimentadas com concentrações crescentes de All-G-Rich® na dieta por 57 dias.

| Ácidos graxos selecionados <sup>1</sup> , % do total de ácidos graxos <sup>2</sup> | Inclusão de All-G-Rich® na dieta, % matéria seca |       |       |       |       | <i>Pooled</i> SEM <sup>6</sup> | R <sup>2</sup> | P <sup>7</sup> |
|--|--|-------|-------|-------|-------|--------------------------------|----------------|----------------|
|  | 0  | 0,5   | 1,0   | 2,0   | 4,0   |                                |                |                |
| LOA, 18:2n-6   | 12,11  | 12,35 | 12,50 | 12,57 | 12,32 | 0,06                           | 0,95           | 0,10           |
| α-LNA, 18:3n-3   | 0,55   | 0,54  | 0,56  | 0,57  | 0,59  | 0,00                           | 0,90           | 0,03           |
| ARA, 20:4n-6   | 2,80   | 2,49  | 2,36  | 2,03  | 1,69  | 0,07                           | 0,98           | < 0,001        |
| EPA, 20:5n-3   | ND <sup>5</sup>                                  | ND    | ND    | 0,08  | 0,14  | 0,00                           | -              | -              |
| DHA, 22:6n-3   | 1,18   | 2,49  | 3,99  | 5,16  | 8,94  | 0,19                           | 0,97           | < 0,001        |
| <b>Grupos de ácidos graxos<sup>3</sup>, % total ácidos graxos</b>                  |  |       |       |       |       |                                |                |                |
| ΣSFA   | 37,41  | 37,03 | 37,52 | 37,64 | 37,61 | 0,38                           | 0,44           | 0,25           |
| ΣMUFA  | 36,63  | 36,48 | 34,70 | 33,95 | 30,68 | 1,16                           | 0,97           | < 0,001        |
| ΣPUFA n-3  | 1,98   | 3,27  | 4,79  | 6,01  | 9,91  | 0,21                           | 0,97           | < 0,001        |
| ΣPUFA n-6  | 19,39  | 18,88 | 18,72 | 17,87 | 17,56 | 0,51                           | 0,96           | < 0,001        |
| ΣLC-PUFA n-3   | 1,43   | 2,72  | 4,23  | 5,44  | 9,32  | 0,21                           | 0,97           | < 0,001        |
| ΣLC-PUFA n-6   | 7,27   | 6,53  | 6,22  | 5,30  | 5,24  | 0,42                           | 0,96           | < 0,001        |
| n-3/n-6  | 0,10   | 0,17  | 0,26  | 0,34  | 0,56  | 0,00                           | 0,98           | < 0,001        |
| <b>DHA<sup>4</sup>, g/ 100g matéria seca</b>                                       | 0,06   | 0,14  | 0,23  | 0,31  | 0,52  | 0,00                           | 0,98           | < 0,001        |
| <b>Lipídios, % matéria seca</b>  | 6,98   | 7,36  | 7,24  | 7,84  | 7,48  | 0,58                           | 0,64           | 0,16           |

<sup>1</sup> Ácidos graxos: LOA= Linoleico, α-LNA= α-linolênico, ARA= Araquidônico, EPA= Eicosapentaenoico, DHA= Docosaenoico

<sup>2</sup> Ácidos graxos detectados e totalizados (com variações entre tratamentos): 8:0, 10:0, 14:0, 16:0, 18:0, 20:0, 22:0, 14:1n-5, 18:1n-7, 18:1n-9, 20:1n-11, 22:1n-11, 16:2n-4, 18:2n-6, 18:3n-3, 20:2n-6, 20:4n-6, 20:5n-3, 22:4n-6, 22:5n-3, 22:6n-3.

<sup>3</sup> Grupos de ácidos graxos: ΣSFA= saturados, ΣMUFA= monoinsaturados, ΣPUFA= poli-insaturados, ΣLC-PUFA= poli-insaturados de cadeia longa (20 a 22 carbonos).

<sup>4</sup> Ácido graxo docosaenoico (22:6n-3) expresso em g/100g de músculo na matéria seca.

<sup>5</sup> Não detectado (< 0,05%), considerado como “zero”.

<sup>6</sup> Erro padrão da média

<sup>7</sup> As regressões lineares e polinomiais quadráticas das médias dos tratamentos geraram as seguintes equações: α-LNA  $y = 0,0026x^2 - 0,0057x + 0,55$ ; ARA  $y = -0,2677x + 3,078$ ; DHA  $y = 0,3298x^2 - 0,1596x + 1,204$ ; MUFA  $y = -0,3729x^2 + 0,7968x + 36,2$ ; PUFA n-3  $y = 0,3515x^2 - 0,2509x + 2,077$ ; PUFA n-6  $y = -0,4661x + 19,88$ ; LC PUFA n-3  $y = 0,3489x^2 - 0,2453x + 1,526$ ; LC PUFA n-6  $y = 0,0542x^2 - 0,8543x + 8,08$ ; n-3/n-6  $y = 0,0222x^2 - 0,0247x + 0,115$ ; DHA (g/100g)  $y = 0,0181x^2 - 0,0001x + 0,0531$ .

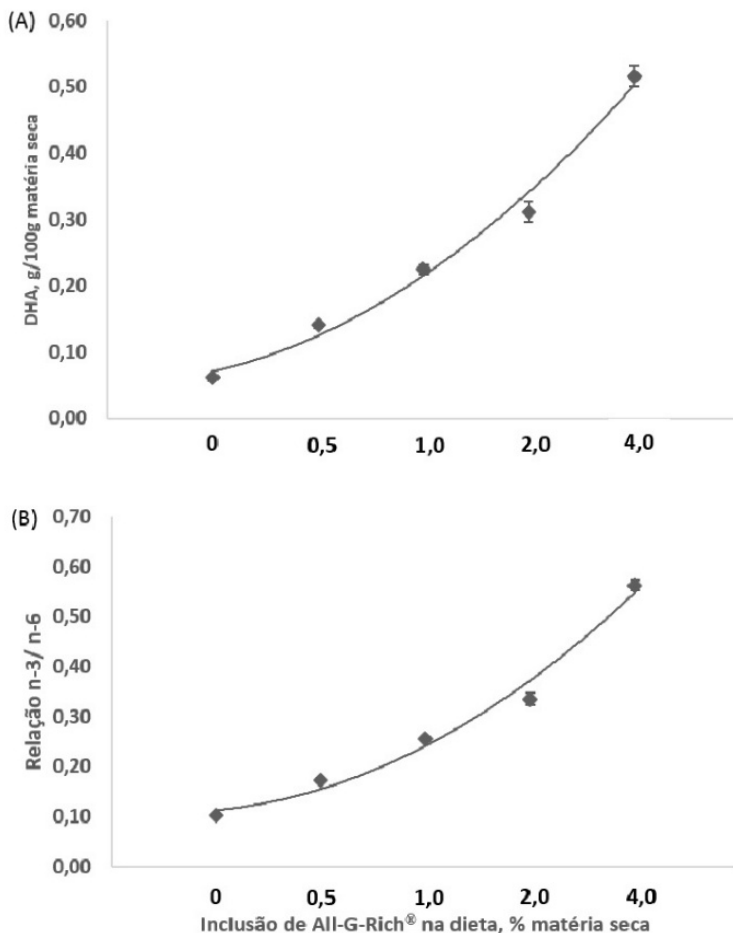


Figura 2 (A) Perfil de DHA (g/100g da matéria seca) e (B) relação n-3/n-6 do músculo (média  $\pm$  SEM) em juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com concentrações crescentes de All-G-Rich® na dieta por 57 dias.

Foram observadas diferenças significativas no perfil de ácidos graxos do músculo dos peixes alimentados com a dieta 1% All-G-Rich® e aqueles alimentados com a dieta OFB (Tabela 8). O conteúdo de DHA foi significativamente maior nos peixes alimentados com a dieta OFB em relação aqueles alimentados com All-G-Rich®. Entretanto, não foram observadas diferenças significativas para o conteúdo de  $\alpha$ -LNA, LOA e

ARA. Já o EPA só foi detectado no músculo dos peixes alimentados com a dieta OFB.

Tabela 8 Perfil de ácidos graxos no músculo em juvenis de tilápia-do-nylo alimentadas com duas fontes de DHA na dieta, All-G-Rich® ou óleo de fígado de bacalhau, por 57 dias.

| Ácidos graxos selecionados <sup>1</sup> ,<br>% total ácidos graxos <sup>2</sup> | Dietas <sup>5</sup> |                            | Pooled<br>SEM <sup>7</sup> | P       |
|---|---------------------|----------------------------|----------------------------|---------|
|   | All-G-Rich®         | Óleo de fígado de bacalhau |                            |         |
| LOA, 18:2n-6  | 12,50               | 12,75                      | 0,04                       | 0,22    |
| α-LNA, 18:3n-3  | 0,56                | 0,61                       | 0,00                       | 0,05    |
| ARA, 20:4n-6  | 2,36                | 2,28                       | 0,01                       | 0,45    |
| EPA, 20:5n-3  | ND <sup>6</sup>     | 0,29                       | -                          | -       |
| DHA, 22:6n-3  | 3,99                | 5,72                       | 0,07                       | < 0,001 |
| <b>Grupos de ácidos graxos<sup>3</sup>,<br/>% total ácidos graxos</b>           |                     |                            |                            |         |
| ΣSFA  | 37,52               | 34,50                      | 0,23                       | < 0,001 |
| ΣMUFA   | 34,70               | 34,63                      | 0,16                       | 0,86    |
| ΣPUFA n-3   | 4,79                | 8,54                       | 0,06                       | < 0,001 |
| ΣPUFA n-6   | 18,72               | 17,50                      | 0,11                       | 0,006   |
| ΣLC-PUFA n-3  | 4,23                | 7,93                       | 0,06                       | < 0,001 |
| ΣLC-PUFA n-6  | 6,22                | 4,75                       | 0,06                       | < 0,001 |
| n-3/n-6   | 0,26                | 0,49                       | 0,00                       | < 0,001 |
| <b>DHA<sup>4</sup>, g/100g matéria seca</b>                                     | 0,23                | 0,33                       | 0,00                       | < 0,001 |
| <b>Lipídios, % matéria seca</b>   | 7,24                | 7,38                       | 0,06                       | 0,60    |

<sup>1</sup> Ácidos graxos: LOA= Linoleico, α-LNA= α-linolênico, ARA= Araquidônico, EPA= Eicosapentaenoico, DHA= Docosaenoico.

<sup>2</sup> Ácidos graxos detectados e totalizados (com variações entre tratamentos): 8:0, 10:0, 14:0, 16:0, 18:0, 20:0, 22:0, 14:1n-5, 18:1n-7, 18:1n-9, 20:1n-11, 22:1n-11, 16:2n-4, 18:2n-6, 18:3n-3, 20:2n-6, 20:4n-6, 20:5n-3, 22:3n-3, 22:4n-6, 22:5n-3, 22:6n-3.

<sup>3</sup> Grupos de ácidos graxos: ΣSFA= saturados, ΣMUFA= monoinsaturados, ΣPUFA= poli-insaturados, ΣLC-PUFA= poli-insaturados de cadeia longa (20 a 22 carbonos).

<sup>4</sup> Ácido graxo docosaenoico (22:6 n-3) expresso em g/100g de músculo na matéria seca.

<sup>5</sup> Dietas com conteúdo similar de DHA: All-G-Rich® = inclusão de 1% de All-G-Rich® na dieta (% matéria seca) e Óleo de fígado de bacalhau = inclusão de 1,7% deste óleo na dieta (% matéria seca).

<sup>6</sup> Não detectado (< 0,05%), considerado como “zero”.

<sup>7</sup> Erro padrão da média.

As tilápias alimentadas com a dieta 1% All-G-Rich® apresentaram maior concentração de SFA, PUFA n-6 e LC-PUFA n-6 no perfil de ácidos graxos do músculo, em relação àquelas alimentadas com a dieta OFB (Tabela 8). Por outro lado, a dieta OFB resultou em maior acúmulo de PUFA n-3 e LC-PUFA n-3, além de maior relação n-3/n-6 PUFA. Já a concentração de MUFA no músculo, assim como a concentração do total de lipídios não diferiu para os peixes que receberam a dieta 1% All-G-Rich® ou a dieta OFB (Tabela 8).

Não foi observado efeito significativo dos níveis de inclusão de All-G-Rich® na dieta sobre o peso final e sobrevivência da tilápia-do-nilo, assim como nos índices viscerossomático e hepatossomático, quando analisados por regressão (Tabela 9).

Tabela 9 Peso, sobrevivência e índices corporais de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com concentrações crescentes de All-G-Rich® na dieta por 57 dias.

| Variáveis                  | Inclusão de All-G-Rich® na dieta,<br>% matéria seca |       |       |       |       | Pooled<br>SEM <sup>1</sup> | R <sup>2</sup> | P <sup>2</sup> |
|----------------------------|---|-------|-------|-------|-------|----------------------------|----------------|----------------|
|                            | 0   | 0,5   | 1,0   | 2,0   | 4,0   |                            |                |                |
| Peso inicial, g            | 8,37  | 8,36  | 8,37  | 8,37  | 8,35  | 0,04                       | -              | -              |
| Peso final, g              | 93,52   | 96,23 | 97,89 | 96,72 | 94,69 | 6,30                       | 0,06           | 0,74           |
| Sobrevivência, %           | 87,20   | 78,40 | 94,40 | 83,20 | 82,40 | 11,91                      | 0,01           | 0,78           |
| Índice viscerossomático, % | 10,58   | 10,28 | 10,40 | 10,83 | 10,66 | 0,59                       | 0,26           | 0,39           |
| Índice hepatossomático, %  | 2,21  | 2,16  | 2,17  | 2,37  | 1,94  | 0,25                       | 0,12           | 0,38           |

<sup>1</sup> Erro padrão da média.

<sup>2</sup> Regressão linear simples.

Também não foram observadas diferenças significativas nas mesmas variáveis, entre as tilápias alimentadas com 1% All-G-Rich® na dieta ou com inclusão de óleo de fígado de bacalhau na dieta (Tabela 10).



Tabela 10 Peso, sobrevivência e índices corporais de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com duas fontes de DHA na dieta, All-G-Rich® ou óleo de fígado de bacalhau, por 57 dias.

| Variáveis                  | Dietas <sup>1</sup> |                            | Pooled SEM <sup>2</sup> | P    |
|----------------------------|---------------------|----------------------------|-------------------------|------|
|                            | All-G-Rich®         | Óleo de fígado de bacalhau |                         |      |
| Peso inicial, g            | 8,37                | 8,36                       | 0,01                    | 0,44 |
| Peso final, g              | 97,89               | 91,47                      | 3,71                    | 0,12 |
| Sobrevivência, %           | 94,40               | 94,40                      | 4,04                    | 0,99 |
| Índice viscerossomático, % | 10,40               | 10,21                      | 0,31                    | 0,55 |
| Índice hepatossomático, %  | 2,17                | 2,21                       | 0,22                    | 0,89 |

<sup>1</sup> Dietas com conteúdo similar de DHA: All-G-Rich® = inclusão de 1% de All-G-Rich® na dieta (% , matéria seca) e Óleo de fígado de bacalhau = inclusão de 1,7% deste óleo na dieta (% , matéria seca).

<sup>2</sup> Erro padrão da média.

#### 4 Discussão

O uso da farinha de *Schizochytrium* sp. (All-G-Rich®) como suplemento dietético de DHA para juvenis de tilápia-do-nilo influenciou a taxa de retenção de ácidos graxos corporais e composição do perfil de ácidos graxos no músculo.

Ficou evidente a influência da dieta sobre a composição de ácidos graxos em tilápia-do-nilo, corroborando os resultados relatados anteriormente por Corrêa et al. (2017) ao avaliar diferentes fontes lipídicas na nutrição da tilápia-do-nilo. Ribeiro et al. (2008), ao estudar o efeito do uso de óleos na dieta sobre a lipogênese e o perfil lipídico em tilápia-do-nilo, também relataram que os ácidos graxos contidos nos lipídios musculares da tilápia refletiram a variabilidade de ácidos graxos presentes nas dietas e concluíram que a nutrição é o principal fator determinante da taxa lipogênica nesta espécie. Tocher (2015), após detalhar várias alternativas, concluiu que a fonte dietética é a única opção viável para manter níveis elevados de LC-PUFA n-3 em tecidos de peixes de criação.

No presente estudo, a taxa de retenção corporal aparente de DHA pela tilápia diminuiu com o aumento das concentrações de All-G-Rich®, ou seja, quanto maior a inclusão de DHA na dieta, menor foi a sua taxa de retenção. Glencross et al. (2003) também descreveram que quanto maior a concentração de um ácido graxo na dieta, geralmente menor é sua deposição relativa. Em estudo com o salmão-do-atlântico, *Salmo salar*, o menor nível de inclusão de DHA na dieta propiciou a maior eficiência de

retenção, cerca de 250%, mas à medida que a inclusão de DHA aumentou, houve declínio curvilíneo na eficiência de retenção, de tal forma que no maior nível de DHA a eficiência de deposição diminuiu para 28% (Glencross et al., 2014). Nobrega et al. (2017), ao avaliarem a exigência do ácido  $\alpha$ -linolênico para tilápia-do-nilo em temperatura sub-ótima, relataram que, à medida que há aumento nos níveis de  $\alpha$ -LNA na dieta, observa-se queda na taxa de retenção deste ácido graxo no corpo.

Apesar da diminuição na taxa de retenção corporal aparente de DHA observada em nosso estudo, o conteúdo absoluto de DHA no músculo dos peixes aumentou com as inclusões crescentes de All-G-Rich® na dieta. Considera-se que a composição do DHA presente no músculo das tilápias foi influenciada pelo DHA presente na dieta; porém, também houve contribuição pela bioconversão de seus precursores. Por exemplo, nos peixes alimentados com a dieta 0% All-G-Rich®, sem adição de uma fonte de DHA, a presença de DHA no músculo deveu-se, possivelmente, à conversão de  $\alpha$ -LNA em DHA (Tocher et al., 2002; Teoh et al., 2011), pois o  $\alpha$ -LNA foi o único precursor presente. Acredita-se que o DHA foi armazenado seletivamente no músculo, como componente das membranas celulares, não sendo usado, ou se foi, em baixas quantidades, para a produção de energia. O catabolismo do DHA, difere daquele dos demais ácidos graxos que podem ser rapidamente oxidados nas mitocôndrias, já que requer  $\beta$ -oxidação nos peroxissomos. Consequentemente, o DHA é menos utilizado para produção de energia, sendo conservado nos fosfolipídios das membranas (Sargent et al., 2002). A especificidade da  $\beta$ -oxidação dos ácidos graxos nos peixes é importante na determinação da composição de ácidos graxos depositados no corpo (Sargent et al., 2002). Portanto, devido às características específicas do metabolismo do DHA, sua suplementação dietética com o objetivo de aumentar seu conteúdo no músculo e, consequentemente, o valor nutricional do filé para consumo, é uma opção eficiente em tilápia-do-nilo. Assim como a composição de DHA, a relação n-3/n-6 no músculo das tilápias aumentou com as inclusões de All-G-Rich® na dieta, sendo influenciada principalmente pelo aumento de DHA no músculo.

Resultados semelhantes ao presente estudo foram relatados por Sarker et al. (2016), onde a inclusão de níveis crescentes de *Schizochytrium* sp. propiciou aumento na concentração de DHA no músculo da tilápia-do-nilo. Entretanto, o ingrediente substituído para inclusão de *Schizochytrium* sp. nas dietas daquele estudo foi o óleo de peixe, sem se levar em conta a equivalência de DHA dos dois ingredientes. Já, no presente estudo, os níveis crescentes de farinha de

*Schizochytrium* sp. se deram pela exclusão de gordura animal, que não continha DHA.

Resultados similares também foram obtidos para outras espécies de peixes. O conteúdo de DHA no músculo da tilápia-de-zanzibar, *Oreochromis honorum*, também foi maior em juvenis alimentados com dieta suplementada com farinha de *Schizochytrium* sp., em relação aos alimentados com dieta suplementada com óleo de milho e óleo de peixe (Watters et al., 2013). Glencross et al. (2014), utilizando *Schizochytrium* sp. como fonte de DHA na dieta do salmão-do-atlântico, constataram que, quanto maior o grau de inclusão de DHA na dieta, maior o conteúdo de DHA na composição corporal. Juvenis de salmão-do-atlântico alimentados com dietas contendo diferentes fontes lipídicas (*Schizochytrium* sp., óleo de palma e óleo de peixe) apresentaram maior quantidade de DHA no músculo quando alimentados com *Schizochytrium* sp. (Miller et al., 2007). Li et al. (2009) ao avaliar níveis crescentes (0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0%) de inclusão de *Schizochytrium* sp. na dieta do bagre-do-canal, *Ictalurus punctatus*, verificaram que quanto maior o nível de inclusão de *Schizochytrium* sp. na dieta, maior o conteúdo de DHA no músculo. O uso de *Schizochytrium* sp. em substituição ao óleo de peixe em dietas livres de farinha de peixe para alimentação da perca-de-jade, *Scortum barcoo*, aumentou a composição de DHA no músculo após 14 semanas de alimentação (Hoestenberghe et al., 2016).

No presente estudo, a retenção corporal aparente de LOA e  $\alpha$ -LNA aumentaram com as inclusões crescentes de All-G-Rich® na dieta da tilápia-do-nilo. Como o conteúdo de cada um destes ácidos graxos foi mantido muito próximo em todas as dietas, a alteração em suas retenções não foi devido à mudança em suas próprias concentrações. Por outro lado, com o aumento de All-G-Rich®, houve aumento de DHA na dieta, ácido graxo com grande tamanho de cadeia, grande número de insaturações e alta fluidez. Com a elevação da concentração de DHA, provavelmente ocorreu diminuição da viscosidade e aumento fluidez dos óleos da dieta como um todo, melhorando a absorção, digestibilidade e retenção dos ácidos graxos como um todo. Conforme salientado por Turquini et al. (2009), a combinação do comprimento da cadeia, grau de insaturação e ponto de fusão dos ácidos graxos individuais é responsável pela ordem preferencial de sua absorção nos peixes, sendo a digestibilidade mais elevada para PUFA de 20 e 22 carbonos, seguido por PUFA de 18 carbonos, MUFA e SFA.

Adicionalmente, o aumento do DHA na dieta aumentou o conteúdo de DHA nos tecidos da tilápia, no presente estudo. Essa modificação pode ter melhorado a permeabilidade das membranas

celulares corporais (Glencross, 2009), o que propiciou absorção mais eficiente dos ácidos graxos em geral e, consequente, melhora na retenção corporal, o que ficou mais evidente para os ácidos graxos mantidos em níveis similares em todas as dietas. Deve-se considerar também que o All-G-Rich<sup>®</sup> é uma farinha produzida através do processo de secagem da biomassa de células inteiras de *Schizochytrium* sp., a qual pode conter outros nutrientes em níveis significativos, tais como  $\beta$ -carotenos, xantofilas, cantaxantina e astaxantina (Aki et al., 2003). Os carotenóides desempenham uma importante função antioxidante e portanto, são potencialmente benéficos para a saúde do peixe, o que provavelmente também contribuiu para o bom funcionamento do metabolismo lipídico e aumento da retenção dos ácidos graxos. Especificamente para a retenção de  $\alpha$ -LNA, considera-se que, ao disponibilizar o DHA já pronto na dieta, parte do  $\alpha$ -LNA que seria convertido em DHA se manteve na sua forma original (Teoh et al., 2011), o que proporcionou aumento de  $\alpha$ -LNA no corpo, refletido no aumento da sua retenção aparente. Nossos resultados confirmam esta hipótese, pois, assim como na retenção, a composição de  $\alpha$ -LNA no músculo das tilápias aumentou com a inclusão crescente de All-G-Rich<sup>®</sup> na dieta.

Ao avaliar a composição de LOA no músculo das tilápias observa-se que, apesar do aumento na taxa de retenção corporal de LOA com a inclusão crescente de All-G-Rich<sup>®</sup> na dieta, não houve aumento de LOA no perfil de ácidos graxos do músculo. Já o ácido araquidônico (ARA), ausente nas dietas, foi detectado no perfil final do músculo, possivelmente devido à conversão do LOA em ARA. A tilápia não tem capacidade de sintetizar ARA a partir de SFA e MUFA; no entanto, possui as enzimas necessárias para a biossíntese de ARA a partir do precursor LOA (Glencross, 2009). Porém, a composição de ARA no músculo das tilápias diminuiu com as inclusões de All-G-Rich<sup>®</sup> na dieta. Tocher (2010) relata que existe preferência das enzimas alongases e dessaturases  $\Delta 5$  e  $\Delta 6$  por ácidos graxos da série n-3. Portanto, a alongação e dessaturação de LOA para ARA, pode ter sido afetada negativamente pela competição enzimática da bioconversão de  $\alpha$ -LNA e EPA em DHA. A afinidade dos ácidos graxos pelas dessaturases aumenta com o tamanho de cadeia e nível de insaturação na seguinte ordem: DHA > EPA > ARA > LNA > LOA > 18:1 > 16:1 (Glencross, 2009). Portanto, devido à falta de especificidade das enzimas, o aumento de DHA na composição do músculo possivelmente causou inibição da atividade enzimática pelo excesso do produto final, que neste caso foi o DHA.

Ao avaliar a composição de EPA no músculo das tilápias observa-se que, apesar deste ser considerado um ácido graxo essencial de

alto valor biológico, o mesmo foi detectado em baixas concentrações e apenas nos peixes alimentados com as dietas que continham as duas maiores inclusões de All-G-Rich®. As dietas com menores inclusões de All-G-Rich® não apresentaram EPA em suas composições, o que pode explicar sua ausência no músculo dos peixes. Entretanto, como discutido anteriormente, possivelmente o  $\alpha$ -LNA presente em todas as dietas foi parcialmente convertido em DHA, mas mesmo assim o intermediário EPA não foi acumulado. Possivelmente, o EPA foi utilizado como precursor de DHA e leucotrienos, além de ser utilizado na  $\beta$ -oxidação (Tonial et al, 2009).

A retenção corporal aparente de PUFA n-3 diminuiu com a inclusão crescente de All-G-Rich® na dieta, de forma similar à retenção de DHA. Isso ocorreu porque o DHA foi o principal PUFA n-3 presente na dieta. O aumento na retenção de PUFA n-6 com a inclusão de All-G-Rich® deveu-se ao aumento da retenção de LOA, principal PUFA n-6 da dieta. Ao avaliar a composição de PUFA n-3 e LC-PUFA n-3 no músculo das tilápias, observa-se que houve aumento nestes grupos com a inclusão crescente de All-G-Rich® na dieta, mais uma vez impulsionado pelo aumento de DHA na dieta e no músculo. Observa-se diminuição na composição de PUFA n-6 e LC-PUFA n-6 no músculo dos peixes alimentados com inclusões crescentes de All-G-Rich® na dieta, o que também foi influenciado pelo conteúdo de ARA no perfil do músculo, já que a composição de LOA se manteve constante.

Ao comparar a taxa de retenção corporal e a composição de ácidos graxos do músculo das tilápias alimentadas com as duas fontes equivalentes de DHA: All-G-Rich® em 1% da dieta e óleo de fígado de bacalhau (OFB), observa-se que as diferenças no perfil de ácidos graxos entre as duas dietas foram determinantes. A taxa de retenção corporal foi maior para todos os ácidos graxos avaliados quando as tilápias foram alimentadas com OFB. Apesar das dietas 1% All-G-Rich® e OFB apresentarem valores muito semelhantes de DHA,  $\alpha$ -LNA e LOA, a dieta OFB continha menos SFA e mais MUFA, PUFA n-3 e LC-PUFA n-3, o que pode ter contribuído para o aumento da fluidez e diminuição da viscosidade dos óleos da dieta, proporcionando melhor absorção e digestibilidade dos ácidos graxos (Turquini et al., 2009) e, consequentemente, melhor retenção, como discutido anteriormente.

Além disso, ao avaliar a retenção do DHA isoladamente, observa-se que os peixes alimentados com a dieta OFB apresentaram quase o dobro de taxa de retenção em relação àqueles que receberam a dieta 1% All-G-Rich®, com valor de taxa de retenção superior à 100%. Isto demonstra claramente a síntese de DHA pela conversão de seus

precursores. As duas dietas continham valores similares de DHA e  $\alpha$ -LNA, com pequena superioridade da dieta OFB para ambos os ácidos graxos. Possivelmente este aumento na retenção ocorreu devido à síntese de DHA a partir de seus precursores 20:5n-3 e 22:5n-3 (Glencross, 2009), detectados apenas na dieta OFB. Além disso, outros PUFA da série n-3, tais como 18:4n-3, 20:4n-3 e 22:3n-3, considerados não essenciais para peixes (Glencross, 2009), também foram detectados apenas na dieta OFB. Portanto, provavelmente todos esses ácidos graxos da série n-3 contribuíram como substratos para a síntese de DHA e também para o aumento do total de PUFA n-3 e LC-PUFA n-3 no corpo das tilápias, contribuindo no importante papel de manutenção da fluidez e função das membranas celulares. Da mesma forma, quando se avalia a composição de DHA, PUFA n-3, LC-PUFA n-3 no músculo das tilápias, observa-se que, assim como na retenção, peixes alimentados com a dieta OFB apresentaram maiores valores para estes ácidos graxos no músculo.

Com relação à composição de LOA e  $\alpha$ -LNA, apesar da maior retenção destes ácidos graxos nos peixes alimentados com a dieta contendo OFB, não foram observadas diferenças na composição do músculo em comparação com os peixes alimentados com a dieta 1% All-G-Rich®. A presença de ARA na composição do músculo dos peixes alimentados com ambas as dietas, possivelmente, deveu-se à conversão do LOA em ARA, assim como constatado naqueles alimentados com as demais dietas contendo All-G-Rich®. O EPA, presente apenas na dieta OFB, também só foi detectado na composição do músculo de tilápias alimentadas com a dieta OFB. A maior composição de PUFA n-3 e LC-PUFA n-3 e menor composição de PUFA n-6 e LC-PUFA n-6 contribuíram também para a maior relação n-3/n-6 no músculo de tilápias alimentadas com a dieta OFB.

Apesar do presente estudo ter avaliado juvenis de tilápia-do-nilo apenas até 97 g de peso corporal, constatou-se que a suplementação de 2 e 4% de All-G-Rich® na dieta proporcionou adequada relação de n-3/n-6 no músculo dos peixes para alimentação humana, o que pode contribuir para a redução do risco de muitas doenças crônicas de alta prevalência, conforme relatado por Simopoulos (2002). O All-G-Rich® também mostrou ser uma fonte eficiente de DHA para incorporação deste ácido graxo no músculo da tilápia, sendo possível incorporar até 0,46 g/100 g de DHA no músculo. Quando comparados como fontes equivalentes da mesma quantidade de DHA, o óleo de fígado de bacalhau mostrou-se superior ao All-G-Rich® para a retenção corporal e incorporação de DHA no músculo da tilápia. Entretanto, a adição deste óleo tem se tornado inviável para uso em dietas para aquicultura, sobretudo para peixes

onívoros como a tilápia-do-nilo. A pressão sobre o consumo de óleos e farinhas de peixe de origem marinha tem crescido, tanto pelo crescimento da aquicultura quanto pelo aumento em suplementos para a alimentação humana. E ainda, a produção de pescado para fabricação de óleo e farinha de peixe encontra-se estagnada, aumentando o custo destes ingredientes (FAO, 2016).

## 5 Conclusão

Conclui-se, portanto, que a farinha de *Schizochytrium* sp. All-G-Rich® pode ser considerada uma fonte alternativa de DHA em dietas para a tilápia-do-nilo com a finalidade de melhorar a relação de n-3/n-6 PUFA e o conteúdo de DHA no músculo. Entretanto, ainda são necessários estudos econômicos em experimentos de maior duração e com peixes maiores, já que a eficiência de retenção de DHA cai com o aumento de All-G-Rich® na dieta.

## 6 Referências

- Aki, T., Hachida, K., Yoshinaga, M., Katai, Y., Yamasaki, T., Kawamoto, S., Kakizono, T., Maoka, T., Shigeta, S., Suzuki, O., Ono, K., 2003. Thraustochytrid as a Potential Source of Carotenoids. 80, 789–794.
- A.O.A.C., 1999. Official Methods of Analysis of the AOAC International. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg.
- Corrêa, C.F., Nobrega, R.O., Mattioni, B., Block, J.M., Fracalossi, D.M., 2017. Dietary lipid sources affect the performance of Nile tilapia at optimal and cold, suboptimal temperatures. Aquac. Nutr. <http://doi.org/10.1111/anu.12469>
- FAO, 2016. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016. Food and Agriculture Organization, Roma (224 pp).
- Folch, J., Lees, M., Stanley, G. H. S., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 226, 497-509.
- Furuya, W.M.; Barros, M.M.; Pezzato, L.E.; Cyrino, J.E.P. 2012. Exigências nutricionais e alimentação da tilápia. In: Fracalossi, D.M.,

Possebon, J.E.C. (Eds), Nutriaqua: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura, Florianópolis, pp. 255-268.

Glencross, B.D., Hawkins, W.E., Curnow, J.G., 2003. Restoration of the fatty acid composition of red seabream (*Pagrus auratus*) after grow-out on plant oil based diets. *Aquac. Nutr.* 9, 409–418.

Glencross, B.D., 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Rev. Aquac.* 1, 71-124.

Glencross, B.D., Tocher, D.R., Matthew, C., Bell, J.G., 2014. Interactions between dietary docosahexaenoic acid and other long-chain polyunsaturated fatty acids on performance and fatty acid retention in post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish Physiol. Biochem.* 40, 1213-1227.

Hoestenbergh, S.V., Fransman, C.A., Luyten, T., Vermeulen, D., Roelants, I., Buysens, S., Goddeeris, B.M., 2016. *Schizochytrium* as a replacement for fish oil in a fishmeal free diet for jade perch, *Scortum barcoo* (McCulloch & Waite). *Aquac. Res.* 47, 1747-1760.

Lewis, T.E., Nichols, P.T., McMeekin, T.A., 1999. The Biotechnological Potential of Thraustochytrids. *Mar. Biotechnol.* 1, 580-587.

Li, M.H.; Robinson, E.H.; Tucker, C.S.; Manning, B.B.; Khoo, L., 2009. Effects of dried algae *Schizochytrium* sp., a rich source of docosahexaenoic acid, on growth, fatty acid composition, and sensory quality of channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture.* 292, 232-236.

Miller, M.R., Nichols, P.D., Carter, C.G., 2007. Replacement of fish oil with thraustochytrid *Schizochytrium* sp. L oil in Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L) diets. *Comp. Biochem. Physiol., Part A*, 148, 382-392.

Nobrega, R.O., Corrêa, C.F, Mationi, B., Fracalossi, D.M., 2017. Dietary  $\alpha$ -linolenic for juvenile Nile tilapia at cold suboptimal temperature. *Aquaculture.* 471, 66-71.

NRC (Nacional Research Council), 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. National Research Council. National Academic Press, Washington, DC.



O'Fallon, J.V., Busboom, J.R., Nelson, M.L., Gaskins, C. T., 2007. A direct method for fatty acid methyl ester synthesis: Application to wet meat tissues, oils, and feedstuffs. *J. Anim. Sci.* 85, 1511-1521.

Pompma, T.J., Lovshin, L.L., 1995. Worldwide prospects of commercial production of tilapia. Auburn University, Alabama (42 pp).

Ribeiro, P.A.P., Logato, P.V.R., Paula, D.A.J., Costa, A.C., Murgas, L.D.S., Freitas, R.T.F., 2008. Efeito do uso de óleo na dieta sobre a lipogênese e o perfil lipídico de tilápias-do-nilo. *R. Bras. Zootec.* 37(8), 1331-1337.

Ruxton, C.H.S., Calder, P.C., Reed, S.C., Simpson, M.J.A., 2005. The impact of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids on human health. *Nutr Res Rev.* 18, 113-129. <http://doi.org/10.1079/NRR200497>.

Sargent, J.R., Tocher, D.R., Bell, J.G., 2002. The lipids. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition*, third ed. Academic Press, San Diego, pp. 181–257.

Sarker, P.K., Kapuscinski, A.R., Lanois, A.J., Livesey, E.D., Bernhard, K.P., Coley, M.L., (2016) Towards Sustainable Aquafeeds: Complete Substitution of Fish Oil with Marine Microalga *Schizochytrium* sp. Improves Growth and Fatty Acid Deposition in Juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *PLoS ONE.* 11(6), 1-17. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0156684>

Simopoulos, A.P., 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother.* 56, 365–379.

Teoh, C.Y., Turchini, G.M., Ng, W.K., 2011. Erratum to “Genetically improved farmed Nile tilapia and red hybrid tilapia showed differences in fatty acid metabolism when fed diets with added fish oil or a vegetable oil blend”. *Aquaculture.* 316, 144-154.

Tocher, D.R., Agaba, M., Hastings, N., Bell, J.G., Dick, J.R., Teale, A.J., 2002. Nutritional regulation of hepatocyte fatty acid desaturation and polyunsaturated fatty acid composition in zebrafish (*Danio rerio*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Physiol. Biochem.* 24, 309-320.

Tocher, D.R., 2010. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquac. Res.* 41, 717-732.

Tocher, D.R., 2015. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective. *Aquaculture*. 449, 94-107.

Tonial, I.B., Stevanato, F.B., Matsushita, M., De Souza, N.E., Furuya, W.M., Visentainer, J.V., 2009. Optimization of flaxseed oil feeding time length in adult Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) as a function of muscle omega-3 fatty acids composition. *Aquac. Nutr.* 15, 564–568.

Turchini, G.M., Torstensen, B.E., Ng, W.K., 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. *Rev. Aquac.* 1, 10-57.

Ways, P., Hanahan, D. J., 1964. Characterization and quantification of red cell lipids in normal man. *J. Lipid Res.* 5, 318-328.

Watters, C.A., Rosner, L.S., Adrian, A.F., Dominy, W.G., Klingerbowen, R., Tamaru, C.S., 2013. Nutritional Enhancement of Long-Chain Omega-3 Fatty Acids in Tilapia (*Oreochromis honorum*). *Isr. J. Aquacult.* 65, 1-7.

Visentainer, J.V., Franco, M.R.B., 2006. In: Visentainer, J.V., Franco, M.R.B. (Eds), *Ácidos graxos em óleos e gorduras: identificação e quantificação*. Varela, São Paulo, Brasil. (120p).

## REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

CHEN, C.; SUNA, B.; LI, X.; LI, P.; GUANA, W.; BI, Y.; PANA, Q. N-3 essential fatty acids in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: Quantification of optimum requirement of dietary linolenic acid in juvenile fish. **Aquaculture**, v. 416-417, p. 99-104, 2013.

CHOU, B-S; SHIAU, S-Y. Both n-6 and n-3 fatty acids are required for maximal growth of juvenile hybrid tilapia. **North American Journal of Aquaculture**, v. 61, p. 13-20, 1999.

CHOU, B. S.; SHIAU, S. Y.; HUNG, S. S. O. Effect of dietary cod liver oil on growth and fatty acids of juvenile hybrid tilapia. **North American Journal of Aquaculture**, v. 63, p. 277-284, 2001.

FAO, 2016. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura: 2016**. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Roma, 2016, 224 p.

FURUYA, W. M.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; CYRINO, J. E. P. Exigências nutricionais e alimentação da tilápia. In: FRACALLOSSI, D. M.; CYRINO, J. E. P. (Eds.); **Nutriaqua: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura**, Florianópolis: Aquabio; 2012, p. 255-268.

GLENCROSS, B. D. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. **Reviews in Aquaculture**, v. 1, p.71-124, 2009.

GLENCROSS, B. D.; TOCHER, D. R.; MATTHEW, C.; BELL, J. G. Interactions between dietary docosahexaenoic acid and other long-chain polyunsaturated fatty acids on performance and fatty acid retention in post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Fish Physiology Biochemistry**, v. 40, p. 1213-1227, 2014.

HOESTENBERGHE, S. V.; FRANSMAN, C. A.; LUYTEN, T.; VERMEULEN, D.; ROELANTS, I.; BUYSSENS, S.; GODDEERIS, B.M. *Schizochytrium* as a replacement for fish oil in a fishmeal free diet for jade perch, *Scortum barcoo* (McCulloch & Waite). **Aquaculture Research**, v. 47, p. 1747-1760, 2016.

HONG, S.; TJONAHEN, E.; MORGAN, E.L.; LU, Y.; SERHAN, C.N.; ROWLEY, A.F. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) brain cells biosynthesize novel docosaehaenoic acid-derived resolvins and protectins - Mediator lipidomic analysis. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v. 78, n. 1-4, p. 107-116, 2005.

IBGE. INSTITUTO NACIONAL DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (Brasil). **Produção da pecuária municipal 2015**. Rio de Janeiro, 2015, v. 43.

KANAZAWA, A.; TESHIMA, S.; SAKAMOTO, M. Requirements of *Tilapia zillii* for essential fatty acids. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v. 46, n. 11, p. 1353-1356, 1980.

LEWIS, T. E., NICHOLS, P. T., MCMEEKIN, T. A. The Biotechnological Potential of Thraustochytrids. **Marine Biotechnology**, v.1, p. 580-587, 1999.

LI, M. H.; ROBINSON, E. H.; TUCKER, C. S.; MANNING, B. B.; KHOO, L. Effects of dried algae *Schizochytrium* sp., a rich source of docosaehaenoic acid, on growth, fatty acid composition, and sensory quality of channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 292, p. 232-236, 2009.

LI, E.; LIM, C.; KLESIUS, P. H.; WELKER, T. L. Growth, body fatty acid composition, immune response, and resistance to *Streptococcus iniae* of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*, fed diets containing various levels of linoleic and linolenic acids. **Journal of World Aquaculture Society**, v. 44, n. 1, p. 42-55, 2013.

MILLER, M. R.; NICHOLS, P. D.; CARTER, C. G. Replacement of fish oil with thraustochytrid *Schizochytrium* sp. L oil in Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L) diets. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A, v. 148, p. 382-392, 2007.

MORO, G. V.; REZENDE, F. P.; ALVES, A. L.; HASHIMOTO, D. T.; VARELA, E. S.; TORATI, L. S. Espécies de peixes para piscicultura. In: RODRIGUES, A. P. O.; LIMA, A. F.; ALVES, A. L.; ROSA, D. K.; TORATI, L. S.; SANTOS, V. R. V. (Eds). **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos**. Brasília, DF: Embrapa, 2013, p. 29-70.

NOBREGA, R. O.; CORRÊA, C. F.; MATIONI, B. FRACALOSS, D. M. Dietary  $\alpha$ -linolenic for juvenile Nile tilapia at cold suboptimal temperature. **Aquaculture**, v. 471, p. 66-71, 2017.

NRC (National Research Council). **Nutrient requirements of fish and shrimp**. Washington, DC.: National Academic Press, 2011. 360p.

RUXTON, C. H. S.; CALDER, P. C.; REED, S. C.; SIMPSON, M. J. A. The impact of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids on human health. **Nutrition Research Reviews**, v. 18, p. 113-129, 2005.

SARGENT, J. R.; HENDERSON, R. J.; TOCHER, D. R. In: HALVER, J. E. (Ed.), **Fish Nutrition**, 2 ed. Ed: Academic Press; New York, 1989, p. 153.

SARGENT, J.R.; TOCHER, D.R.; BELL, J.G. The lipids. In: HALVER, J.E.; HARDY, R.W. (Eds.), **Fish Nutrition**, 3 ed. Ed: Academic Press; San Diego, 2002, p. 181–257.

SARKER, P. K.; KAPUSCINSKI, A. R.; LANOIS, A. J.; LIVESEY, E. D.; BERNHARD, K.P.; COLEY, M.L. Towards Sustainable Aquafeeds: Complete Substitution of Fish Oil with Marine Microalga *Schizochytrium* sp. Improves Growth and Fatty Acid Deposition in Juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **PLoS ONE**, v. 11, n. 6, p. 1-17, 2016a.

SARKER, P.K.; GAMBLE, M.M.; KELSON, S.; KAPUSCINSKI, A.R. Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) show high digestibility of lipid and fatty acids from marine *Schizochytrium* sp. and of protein and essential amino acids from freshwater *Spirulina* sp. feed ingredients. **Aquaculture Nutrition**, p.1-11, 2016b.

SIMOPOULOS, A. P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomed Pharmacother**, v. 56, p. 365–379, 2002.

TACON, A. G. J.; HASSAN, M. R.; SUBASINGHE, R. P. **Use of fishery resources as feed inputs to aquaculture development: trends and policy implications**. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2006, 99 p.

TAKEUCHI, T.; SATOH, S.; WATANABE, T. Requirement of *Tilapia nilotica* for essential fatty acids. **Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish**, v. 49, p. 1127-1134, 1983.

TEOH, C. Y.; TURCHINI, G. M.; Ng, W. K. Erratum to “Genetically improved farmed Nile tilapia and red hybrid tilapia showed differences in fatty acid metabolism when fed diets with added fish oil or a vegetable oil blend”. **Aquaculture**, v. 316, p. 144-154, 2011.

TESHIMA, S. I.; KANAZAWA, A.; SAKAMOTO, M. Essential fatty acids of tilapia nilótica. **Memoirs of Faculty of Fisheries, Kagoshima University**, v. 31, p. 201-204, 1982.

TOCHER, D. R.; AGABA, M.; HASTINGS, N.; BELL, J. G.; DICK, J. R.; TEALE, A. J. Nutritional regulation of hepatocyte fatty acid desaturation and polyunsaturated fatty acid composition in zebrafish (*Danio rerio*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 24, p. 309-320, 2002.

TOCHER, D. R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. **Reviews in Fisheries Science**, v. 11, n. 2, p. 107-184, 2003.

TOCHER, D. R. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. **Aquaculture Research**, v. 41, p. 717-732, 2010.

TOCHER, D.R. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective. **Aquaculture**, v. 449, p. 94-107, 2015.

TURCHINI, G. M.; TORSTENSEN, B. E.; Ng, W. K. Fish oil replacement in finfish nutrition. **Reviews in Aquaculture**, v. 1, p. 10-57, 2009.

WANG, Y.; LI, M.; FILER, K.; XUE, Y.; AI, Q.; MAI, K. Evaluation of *Schizochytrium* meal in microdiets of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae. **Aquaculture Research**, v. 48, p. 2328–2336, 2017.

WATTERS, C. A.; ROSNER, L. S.; ADRIAN, A. F.; DOMINY, W. G.; KLINGERBOWEN, R.; TAMARU, C. S. Nutritional Enhancement of Long-Chain Omega-3 Fatty Acids in Tilapia (*Oreochromis honorum*). **The Israeli Journal of Aquaculture**, v. 65, p. 1-7, 2013.

YAMASAKI, T.; AKI, T.; MORI, Y.; YAMAMOTO, T.; SHINOZAKI, M.; KAWAMOTO, S.; ONO, K. Nutritional Enrichment of Larval Fish Feed with Thraustochytrid Producing Polyunsaturated Fatty Acids and Xanthophylls. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 104, n. 3, p. 200–206, 2007.